



Wertigkeit ausgewählter Eisenstoffwechselfparameter im Ausdauersport

Inauguraldissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Philosophie (Dr. phil.)
im Fach Sportwissenschaft

eingereicht an der

**Philosophischen Fakultät IV
Institut für Sportwissenschaft
der Humboldt-Universität zu Berlin**

von Steffi Brachmann

Präsident der Humboldt-Universität zu Berlin:
Prof. Dr. Christoph Marksches

Dekanin der Philosophischen Fakultät IV:
Prof. Dr. Wiltrud Gieseke

Datum der Promotion: 24.11.2010

Abstract

Einleitung: Eisenmangel ist ein häufiges Problem bei Ausdauersportlern, da dieser die Leistungsfähigkeit einschränken und zu einer Blutanämie führen kann. Von den klassischen Eisenstoffwechselfparametern sind nur wenige geeignet, den tatsächlichen Eisenstatus anzuzeigen, da sie durch sportliche Aktivität per se beeinflusst werden können. In der Studie wird die Wertigkeit moderner Eisenstoffwechselfparameter im Ausdauersport untersucht.

Ergebnisse und Diskussion: Der Hämoglobingehalt der Retikulozyten (CHr) und der prozentuale Anteil der hypochromen Erythrozyten (% HYPO) bleiben als moderne Parameter der Eisenstoffwechseldiagnostik auch nach regenerativen, extensiven sowie intensiven Ausdauerbelastungen konstant. Sie zeigen somit unbeeinflusst von der (Ausdauer-)Sportart als auch von der Belastungsdauer und -intensität die aktuelle Eisenversorgung der Erythropoese im Knochenmark an. Als Monitoringparameter im Rahmen einer Eisensubstitution sind der CHr sowie der prozentuale Anteil hypochromer Retikulozyten sensible Parameter, mit denen sich schnell und zuverlässig die Effektivität einer oralen Eisensubstitution nachweisen lässt.

Der Eisenstatus kann durch die alleinige Bestimmung des CHr bzw. des % HYPO nicht exakt ermittelt werden. Im Gegensatz zum Einsatz bei klinischen Fragestellungen können sie zu diesem Zeitpunkt in der Sportmedizin allenfalls nur ein ergänzender Parameter in der Differentialdiagnostik eines Eisenmangels sein. Die für Ausdauersportler ermittelten Referenzwerte liegen bei 28,8-35,9 pg für den CHr und bei 0-0,5 % für die hypochromen Erythrozyten.

Ein belastungsbedingter Anstieg des Eisen-regulierenden Hormons Hepcidin könnte auf Grund seiner inhibitorischen Wirkung auf die intestinale Eisenabsorption sowie auf die Freisetzung von Eisen aus den Makrophagen zur Entwicklung von Eisenmangelzuständen führen. Die Entwicklung von Hepcidin-Antagonisten könnte in Zukunft therapeutische Anwendungen finden.

Schlagerworte: Eisenmangel, Ausdauersport, Hämoglobingehalt der Retikulozyten, prozentualer Anteil hypochromer Erythrozyten, Hepcidin

Abstract

Introduction: Athletes are commonly diagnosed with iron deficiency, particularly those involved in endurance sports. It often not only decreases athletic performance but also contributes to the development of anaemia. Many biochemical markers are used to evaluate body iron stores but some of them are affected by physical exercises. This study was designed to investigate new haematological parameters in endurance athletes.

Results and discussion: Reticulocyte hemoglobin content (CHr) and percentage of hypochromic red cells (% HYPO) were highly stable in athletes subjected to varying physical loads. Furthermore, they were neither affected by different forms of endurance sports nor by their duration and intensity. These modern indices are able to reflect the availability of iron during erythropoiesis at all times. In the early prediction of response to oral iron supplementation, the reticulocyte indices CHr and % HYPO (percentage of hypochromic reticulocytes) are the most sensitive parameters.

However, it is not possible to assess the iron status in athletes by CHr and % HYPO alone. In contrast to other clinical cases they can only be an additional parameter in the differential diagnosis of iron deficiency. The calculated reference range for endurance athletes are 28,8 - 35,9 pg for CHr and 0-0,5 % for % HYPO.

As the iron-regulating hormone hepcidin is inhibiting the absorption of iron from the diet at the site of the duodenal enterocytes and blocking the release of iron from macrophages that have collected senescent erythrocytes, an exercise induced up-regulation of hepcidin activity might potentially be a new mechanism causing iron deficiency in athletes. Therefore, the development of hepcidin antagonists could prove to be helpful with regard to therapeutic utilization.

Key words: iron deficiency, endurance sports, reticulocyte hemoglobin content, percentage of hypochromic red blood cells, hepcidin

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	IV
-----------------------------------	-----------

Abbildungsverzeichnis.....	VI
-----------------------------------	-----------

Tabellenverzeichnis	VIII
----------------------------------	-------------

1 Einleitung und allgemeine Problemstellung	1
--	----------

1.1	Einleitung	1
1.2	Theoretische Grundlagen zum Eisenstoffwechsel.....	4
1.2.1	Funktion von Eisen im menschlichen Organismus	4
1.2.2	Physiologische Grundlagen des Eisenstoffwechsels	4
1.3	Eisenmangel	7
1.3.1	Ursachen des Eisenmangels	7
1.3.2	Diagnostik.....	7
1.3.3	Parameter des Eisenstoffwechsels	8
1.4	Einfluss sportlicher Belastung auf den Eisenstoffwechsel und das rote Blutbild	13
1.4.1	Bedeutung von Eisen im Sport	13
1.4.2	„Pseudoanämie“ – subnormales rotes Blutbild.....	14
1.4.3	Problematik der Eisenmangeldiagnostik im Ausdauersport.....	15
1.4.4	Neue Parameter für die Eisenmangeldiagnostik bei Ausdauersportlern?	18
1.5	Ziele der Arbeit.....	20

2 Methoden.....	21
------------------------	-----------

2.1	Probanden	21
2.1.1	Gesamtkollektiv	22
2.1.2	Probandengruppe Belastungstest.....	22
2.1.3	Probandengruppe Marathon	23
2.1.4	Probandengruppe Substitution	24
2.2	Studiendesign	25
2.2.1	Analyse klassischer und moderner Blutbild- und Eisenstoffwechselfparameter mit Erstellung spezifischer Referenzwerte für Ausdauersportler	25

2.2.2	Einfluss intensiver, extensiver und regenerativer sportlicher Belastungen auf die modernen Eisenstoffwechsellparameter.....	25
2.2.3	Einfluss eines Marathonlaufes auf moderne Eisenstoffwechsellparameter.....	27
2.2.4	Verhalten modernder Eisenstoffwechsellparameter unter Substitution	28
2.3	Blutanalytik.....	29
2.3.1	Analyse der Eisenstoffwechsellparameter.....	29
2.3.2	Analyse der zellulären Parameter und der Retikulozytenindizes	30
2.3.3	Analyse des Pro-Hepcidins	31
2.4	Auswertung und Statistik	33
2.4.1	Weiterführende Prüfung von Klassifikationsmodellen und Diagnoseverfahren	34
3	Ergebnisse	35
3.1	Klassische und moderne Eisenstoffwechsellparameter gesunder Ausdauersportler und -sportlerinnen	36
3.1.1	Bestimmung der Referenzbereiche für CHr und % HYPO für Ausdauersportlern	37
3.2	Einfluss verschiedener sportlicher Belastungen auf moderne Eisenstoffwechsellparameter	38
3.2.1	Sportartspezifische Belastungsvorgaben	38
3.2.2	Veränderungen des CHr, % HYPO und Pro-Hepcidin in Folge regenerativer, extensiver und intensiver Belastungen	39
3.3	Einfluss eines Marathonlaufes	42
3.4	Verhalten moderner Eisenstoffwechsellparameter unter Substitution	45
3.5	Diagnostische Validität von CHr und % HYPO	49
3.5.1	ROC-Analyse.....	49
3.5.2	Klassifikationsmodelle	53
4	Diskussion	56
4.1	Prävalenz von Eisenmangel bei Sportlern.....	56

4.2	Klassische und moderne Parameter der Eisenstoffwechseldiagnostik gesunder Ausdauersportler.....	57
4.3	Einfluss sportlicher Belastungen auf moderne Eisenstoffwechselfparameter	62
4.3.1	Einfluss von regenerativen, extensiven und intensiven Belastungen in verschiedenen Sportarten	62
4.3.2	Einfluss eines Marathonlaufes.....	66
4.4	Verhalten moderner Eisenstoffwechselfparameter unter Substitution	70
4.5	Beurteilung der diagnostischen Effizienz moderner Eisenstoffwechselfparameter im Ausdauersport	77
4.6	Methodenkritik	84
5	Zusammenfassung	85
	Literaturverzeichnis.....	89
	Anhang	103
	Danksagung.....	115
	Eidesstattliche Erklärung.....	116

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
absorb.	absorbierend
BE	Blutentnahme
BLA	Bundesausschuss für Leistungssport
bzgl.	bezüglich
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CI	Konfidenzintervall
CH	mittlere Zellhäoglobinkonzentration
Chr	mittlerer Hämoglobingehalt der Retikulozyten
CRP	C-reaktives Protein
DNA	Desoxyribonukleinsäure
d1/d3/d8	1/3/8 Tag(e) nach der Belastung
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
EPO	Erythropoetin
ggf.	gegebenenfalls
Hrsg.	Herausgeber
Hb	Hämoglobin
IAS	individuelle anaerobe Schwelle
IDA	iron deficiency anemia
IDE	iron deficiency erythropoiesis
IL-6	Interleukin-6
i.S.	im Serum
log	Logarithmus
max.	maximal, -e, -er, -en
MCV	mittleres korpuskuläres Volumen
MCVr	mittleres korpuskuläres Volumen der Retikulozyten
min	Minute, -n
m/s	Meter pro Sekunde
n	Anzahl
n.s.	nicht signifikant

o.g.	oben genannte, -n, -s
p	Irrtumswahrscheinlichkeit (Signifikanz)
P1, P2	Proband 1, -2 ...
RBC	red blood cell
RES	retikulo-endotheliales System
rHu-EPO	rekombiniertes Erythropoietin
RLE	relative Lichteinheiten
RNA	Ribonukleinsäure
s.o.	siehe oben
sTfR	löslicher Transferrinrezeptor
SVM	support vector machine
TfR	Transferrinrezeptor
TfR-F-Index	Transferrinrezeptor-Ferritin-Index
u.a.	und andere, und anderes, unter anderem, unter anderen
vgl.	vergleich(e)
vs.	versus
Wo	Wochen
z.B.	zum Beispiel
% HYPO	prozentualer Anteil hypochromer Erythrozyten
% HYPOr	prozentualer Anteil hypochromer Retikulozyten

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	<i>Verteilung und Regulation des Gesamtkörpereisens; RE-System: retikuloendotheliales System; nach Thomas et al. [142].....</i>	<i>6</i>
Abbildung 2:	<i>Links: Native Erythrozyten, unbehandelt; rechts: Patentierte Zellpräparation: isovolumetrische Aufkugelung („isovolumetric sphering“); Quelle: Bayer Vital GmbH – Diagnostics [89].....</i>	<i>30</i>
Abbildung 3:	<i>Einfluss von regenerativen, extensiven und intensiven Belastungen bei Läufern, Radfahrern und Schwimmern auf den Hämoglobingehalt der Retikulozyten; MANOVA mit Messwiederholung (Median, 25./75. Perzentil)</i>	<i>39</i>
Abbildung 4:	<i>Einfluss von regenerativen, extensiven und intensiven Belastungen bei Läufern, Radfahrern und Schwimmern auf den prozentualen Anteil der hypochromen Erythrozyten; MANOVA mit Messwiederholung (Median, 25./75. Perzentil)</i>	<i>40</i>
Abbildung 5:	<i>Einfluss von regenerativen, extensiven und intensiven Belastungen bei Läufern, Radfahrern und Schwimmern auf Pro-Hepcidin; MANOVA mit Messwiederholung (Median, 25./75. Perzentil).....</i>	<i>41</i>
Abbildung 6:	<i>Ferritin unter Eisensubstitution im prä/post-Vergleich; $p < 0,05$ (Wilcoxon-Test).....</i>	<i>46</i>
Abbildung 7:	<i>TfR-F-Index unter Eisensubstitution im prä/post-Vergleich; $p < 0,05$ (Wilcoxon-Test).....</i>	<i>47</i>
Abbildung 8:	<i>CHr unter Eisensubstitution im prä/post-Vergleich; $p < 0,05$ (Wilcoxon-Test).....</i>	<i>48</i>
Abbildung 9:	<i>ROC für den CHr in Bezug auf IDE, $AUC=0,713$, □ Cut-off 31,4 pg (höchste Testgenauigkeit)</i>	<i>51</i>
Abbildung 10:	<i>ROC für den % HYPO in Bezug auf IDE, $AUC=0,839$; □ Cut-off 0,2 % (höchste Testgenauigkeit).....</i>	<i>52</i>
Abbildung 11:	<i>Entscheidungsbaum für die Diagnostik „IDE“ bei Frauen</i>	<i>54</i>
Abbildung 12:	<i>Entscheidungsbaum für die Diagnostik „IDE“ bei Männern.....</i>	<i>54</i>

Abbildung 13: Entscheidungsbaum für die Diagnostik „IDE“ bei Frauen mit ausgewählten Parametern (siehe Tabelle 14)	55
Abbildung 14: Entscheidungsbaum für die Diagnostik „IDE“ bei Männern mit ausgewählten Parametern (siehe Tabelle 14)	55

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Übersicht unterschiedlicher Cut-offs für Ferritin bei Sportlern	16
Tabelle 2:	Stadien des Eisenmangels; * für Frauen, ** für Männer	17
Tabelle 3:	Anthropometrische und trainingsanamnestische Daten des Gesamtkollektives (Median, 25./75. Perzentil); n=222	22
Tabelle 4:	Anthropometrische und trainingsanamnestische Daten der Probanden (Median, 25./ 75. Perzentil); n=30	23
Tabelle 5:	Anthropometrische und trainingsanamnestische Daten der Probanden (Median, 25./ 75. Perzentil); n=75	23
Tabelle 6:	Anthropometrische und trainingsanamnestische Daten der Probanden - Alter, Körperhöhe (KH), -masse (KM), Trainingsalter (TA), Trainingsumfang pro Woche (TU/Woche); (Median, 25./ 75. Perzentil); Männer n=3, Frauen n=7	24
Tabelle 7:	Stadieneinteilung gemäß Definition (siehe Tabelle 2)	35
Tabelle 8:	Ruhewerte gesunder Ausdauersportler (n=131) für Männer und Frauen, Referenzbereiche des Labors 28 [71], *signifikante geschlechtsabhängige Unterschiede (Mann-Whitney U-Test)	36
Tabelle 9:	Mittlere sportartspezifische Belastungsvorgaben (Median, 25./75. Perzentil); REG=regenerativ, EXT=extensiv, INT=intensiv	38
Tabelle 10:	Veränderung hämatologischer Parameter nach einem Marathonlauf (Median, 25./ 75. Perzentil, Signifikanzniveau); n=75 (Männer n=40, Frauen n=35)	42
Tabelle 11:	Veränderung von hämatologischen Parametern und Eisenstoffwechselfparametern nach einem Marathonlauf bei Frauen (Median, 25./75. Perzentil, Signifikanzniveau); n=18.....	43
Tabelle 12:	Veränderung von Eisenstoffwechselfparametern unter Substitution – Darstellung der prä- und post-Werte (Median, 25./75. Perzentil, Signifikanzniveau), n=10	45

Tabelle 13:	<i>ROC-Kurven-Analyse für CHr und % HYPO Beurteilung der AUC nach Metz CE [87]: * fail, **poor, ***fair, ****good</i>	<i>50</i>
Tabelle 14:	<i>ROC-Ergebnisse von Blutbildparametern für IDE mit einer AUC>0,8; 95 % Konfidenzintervall</i>	<i>53</i>
Tabelle 15:	<i>Übersicht unterschiedlicher Mediane für den CHr [pg]; Analysegeräte: * = Technicon H*3; # = ADVIA® 120 (Bayer Diagnostics).....</i>	<i>59</i>
Tabelle 16:	<i>Ergebnisse anderer Studien zur Veränderung von Ferritin nach Eisensubstitution</i>	<i>73</i>
Tabelle 17:	<i>Vergleich unterschiedlicher Referenzbereiche bzw. Cut-offs für den CHr [pg] für die Diagnose einer eisendefizitären Erythropoese; Analysegeräte: * = Technicon H*3; # = ADVIA® 120 (Bayer Diagnostics)</i>	<i>78</i>
Tabelle 18:	<i>Vergleich unterschiedlicher Referenzbereiche bzw. Cut-offs für den % HYPO für die Diagnose einer eisendefizitären Erythropoese; Analysegeräte: * = Technicon H*3; # = ADVIA® 120 (Bayer Diagnostics)</i>	<i>80</i>

Anhang

Tabelle A 1:	<i>Veränderung von Eisenstoffwechselfparametern unter Substitution – Darstellung der Parameter an den einzelnen Untersuchungstagen (Median/ 25. und 75. Perzentil/ Signifikanzniveau), n=10</i>	<i>103</i>
Tabelle A 2:	<i>Übersicht der mit dem ADVIA® 120 analysierten zellulären Parameter und Indizes, Anzahl: 102</i>	<i>108</i>
Tabelle A 3:	<i>Darstellung von Sensitivität, Spezifität, Cut-off und AUC (Area under curve) ausgewählter Blutparameter für die Beurteilung „gesund vs. krank“, Bewertung nach Metz [87]*</i>	<i>111</i>
Tabelle A 4:	<i>Darstellung von Sensitivität, Spezifität, Cut-off und AUC (Area under curve) ausgewählter Blutparameter für die Beurteilung „gesund vs. Speichereisenmangel“, Bewertung nach Metz [87]*</i>	<i>112</i>
Tabelle A 5:	<i>Darstellung von Sensitivität, Spezifität, Cut-off und AUC (Area under curve) ausgewählter Blutparameter für die Beurteilung „gesund vs. IDE“, Bewertung nach Metz [87]*</i>	<i>113</i>
Tabelle A 6:	<i>Darstellung von Sensitivität, Spezifität, Cut-off und AUC (Area under curve) ausgewählter Blutparameter für die Beurteilung „Speichereisenmangel vs. IDE“, Bewertung nach Metz [87]*</i>	<i>114</i>

1 Einleitung und allgemeine Problemstellung

1.1 Einleitung

Ausdauersport ist in der heutigen Gesellschaft ein populärer Volkssport. Er führt zu vielfältigen, überwiegend positiv assoziierten Adaptationen der verschiedenen Organsysteme. Umfangreiche, intensive und extensive physische Belastungen können jedoch auch negative Veränderungen im Körper hervorrufen. Ein vielfach beschriebenes Problem des Ausdauersports ist die Entwicklung einer Anämie. Die häufigste Ursache einer Anämie bei Ausdauersportlern ist der Eisenmangel [121].

Eisenmangel ist weltweit die häufigste Mangelerkrankung. Mit 80 % ist sie die häufigste Ursache für eine Anämie. Die Prävalenz in Europa beträgt 5-10 %, bei Frauen vor der Menopause etwa 20 % [35].

Eisen ist ein essentielles Spurenelement für den menschlichen Körper und spielt darüber hinaus eine entscheidende Rolle für die Leistungsfähigkeit, insbesondere im Ausdauersport. In vielen Studien wurde bereits dokumentiert, dass sich der Eisenstatus von regelmäßig Sporttreibenden nachteilig verändern kann. Als Ursache wird u.a. ein erhöhter, belastungsinduzierter Verlust an Eisen angegeben. Liegt ein Mangel an Eisen vor, kommt es zu einer verminderten Bildung von Hämoglobin und damit zu einer defizitären Erythropoese. Die darauf folgende Reduktion der Sauerstofftransportkapazität und der funktionellen Sauerstoffkapazität der Zellen zeigt sich letztendlich in einer begrenzten Leistungsfähigkeit [11, 148].

Bei einer sportmedizinischen Untersuchung ist die regelmäßige Bestimmung des Eisenstatus deshalb dringend erforderlich. Wichtig ist, die aktuelle Balance zwischen Eisenbedarf und Eisenversorgung der Erythropoese zu erkennen, um ein Ungleichgewicht mit daraus resultierenden Leistungseinbußen rechtzeitig erkennen und frühzeitig behandelt zu können.

Für die Diagnostik stehen dem klinischen Labor verschiedene Parameter und Indizes zur Verfügung. Von den klassischen Eisenstoffwechselparametern sind jedoch nur wenige geeignet, den tatsächlichen Eisenstatus anzuzeigen, da sie durch sportliche Aktivität per se beeinflusst werden können [121]. Die Eisenkonzentration an sich ist auf Grund einer ausgeprägten diurnalen Rhythmik ebenso wie Ferritin als Akute-Phase-Protein nur bedingt für eine suffiziente Eisendiagnostik geeignet. Bei der

Therapie eines Eisenmangels ist zudem eine hinreichende Therapiekontrolle oftmals erst nach Wochen oder Monaten möglich. Die im klinischen Alltag gebräuchliche Bestimmung der Hämoglobinkonzentration indiziert eine längerfristig eingeschränkte Leistungsfähigkeit und ist deshalb für den Leistungssport nicht akzeptabel. Somit kann konstatiert werden, dass die klassischen Eisenstoffwechsel- und Anämieparameter nur sehr eingeschränkt oder deutlich zu spät als diagnostische Parameter geeignet sind.

In den letzten Jahren wurde zunehmend der lösliche Transferrinrezeptor (sTfR) als sensitiver und spezifischer Marker für einen Eisenmangel bei Sportlern verwendet. Mehrere Autoren empfehlen den sTfR als zuverlässigen und stabilen Marker für die Diagnose eines Eisenmangels vor allem im Ausdauersport [74, 77, 121, 129, 145]. Der sTfR ist allerdings sehr analyse- und kostenaufwendig. Zudem sind die kommerziellen Assays derzeit nicht standardisiert.

Mittels moderner Hämatologie-Analysegeräte, wie dem ADVIA®120, Bayer Health Care, ist es möglich, direkte Parameter der Eisenversorgung der Erythropoese zu messen. Der Hämoglobingehalt der Retikulozyten (CHr) und der prozentuale Anteil hypochromer Erythrozyten (%HYPO) haben dabei einen hohen Stellenwert in der Anämiediagnostik bezüglich des Eisenmangels erlangt, insbesondere bei Dialysepatienten [138, 141]. Sie sind in der Lage, unterschiedliche Aussagen hinsichtlich der Eisenversorgung zu geben. Retikulozyten können als Vorläufer der Erythrozyten Vorzeichen einer veränderten Erythropoese sein. Ein niedriger Hämoglobinwert in den Retikulozyten zeigt einen aktuellen Eisenmangel für die Erythropoese an. Eine pathologische Anzahl hypochromer Erythrozyten deutet, auf Grund der Lebensdauer der Erythrozyten von ca. 120 Tagen, auf eine schon länger bestehende Eisenmangelversorgung hin. Für das Monitoring der oralen Eisentherapie von Patienten mit einer Eisenmangelanämie gelten die Parameter ebenfalls als schnelle und sensitive Marker. Zudem können beide Parameter im Rahmen einer Analyse des großen Blutbildes einfach und kostengünstig mitbestimmt werden.

Für die Eisenmangeldiagnostik bei Ausdauersportlern sind diese Erkenntnisse von großer Bedeutung. Ein eintretender Eisenmangel könnte schnell und differenziert erkannt werden, noch bevor eine Leistungsminderung eintritt. Zudem wären eine adäquate Therapie und deren optimale Überwachung möglich.

Bislang wurde die klinische Relevanz der o.g. Parameter bei Sportlern kaum erforscht. Um die bislang gewonnenen Erkenntnisse auf die Population der Ausdauersportler auszuweiten, muss jedoch sichergestellt werden, dass die Parameter auch während und nach intensiven Trainingseinheiten stabil bleiben. Dies soll mit der vorliegenden

Studie untersucht werden. Neben der Ermittlung spezifischer Referenzwerte soll auch die Validität für die Diagnose eines Eisenmangels bei Ausdauersportlern geprüft werden. Darüber hinaus wird bewertet, inwieweit die Parameter ein sensibles Monitoring während einer Eisensupplementation zulassen. Außerdem wird das Verhalten eines weiteren Parameters, dem Hepcidin, untersucht. Dieser zentrale Eisenregulator wurde erst in den letzten Jahren zunehmend in der Eisenmangel-diagnostik berücksichtigt. Das Peptidhormon regelt die Eisenresorption sowie die Eisenfreisetzung. Mögliche Veränderungen in Folge sportlicher Belastungen lassen einen neuen Regelmechanismus des Eisenmangels bei Sportlern vermuten.

1.2 Theoretische Grundlagen zum Eisenstoffwechsel

1.2.1 Funktion von Eisen im menschlichen Organismus

Eisen ist ein Spurenelement und ist essentiell für die Funktion verschiedenster Proteine fundamentaler biochemischer Reaktionen. Eisen ist als Baustein von Hämoglobin für die adäquate Versorgung der Zellen mit Sauerstoff - und damit der Energiebereitstellung durch den Abbau von Kohlenhydraten und Fetten - unerlässlich. Darüber hinaus ist Eisen im Muskeleiweiß Myoglobin enthalten, wo es durch intrazelluläre Sauerstoffübertragung die Muskeln bei hoher Beanspruchung zusätzlich mit Sauerstoff versorgt. Nahezu alle Enzyme der Atmungskette enthalten ebenfalls Eisen in ihrer prosthetischen Gruppe. Da Eisen leicht zwischen seinen zwei- und dreiwertigen Oxidationsstufen wechseln kann, wird es von elektronenübertragenden Enzymen der mitochondrialen Elektronentransportkette verwendet. Auch bei der Produktion von gehirneigenen Botenstoffen (Neurotransmitter) und von Thyroxin (Schilddrüsenhormon) ist Eisen erforderlich. Eisen greift zudem auf mehreren Ebenen in die zelluläre Immunabwehr ein. So beeinflusst es die Proliferation und Differenzierung verschiedener Lymphozytenpopulationen. Durch eine unausgeglichene Eisenbilanz können Abwehrschwächen auftreten und die Anfälligkeit für Infektionen kann steigen. Zudem wird die Thermoregulation gestört [11, 23, 100, 117].

1.2.2 Physiologische Grundlagen des Eisenstoffwechsels

Eisenverteilung: Der Gesamtkörpereisenbestand des gesunden menschlichen Organismus liegt zwischen 3 und 5 g [31]. Er gliedert sich in Kompartimente mit unterschiedlichen Gewichtungen. Der größte Anteil Eisen, etwa 2,5 -3 g, liegt hämoglobingebunden als Funktionseisen in den Erythrozyten vor. Weitere 500-1000 mg (bei Männern) sind als Depoteisen in Form von Ferritin in verschiedenen Speicherorganen abgelagert. Frauen vor der Menopause weisen deutlich weniger Eisenreserven auf (300-400 mg). Ein weiterer Teil von 500 mg befindet sich ebenfalls als Funktionseisen in verschiedenen Proteinen und Enzymen. Das so genannte Transferrin-gebundene Transporteisen macht nur einen kleinen Teil von 4 mg aus und auch der Anteil des täglich resorbierten Eisens ist mit 1 mg gering [31, 48, 100]. Unter normalen Umständen wird pro Tag lediglich 1 mg Eisen ausgeschieden. Dies geschieht hauptsächlich über den Darm, zum Teil aber auch über den Urin und den

Schweiß. Darüber hinaus verlieren menstruierende Frauen monatlich etwa 15-30 mg Eisen. Dieser Verlust kann bei ausreichendem Eisenangebot in der Nahrung durch eine vermehrte Resorption ausgeglichen werden [86].

Resorption: Eisen wird überwiegend im Duodenum, zu einem geringen Teil auch im oberen Jejunum resorbiert. Unter Normalbedingungen werden nur etwa 10 % des Nahrungseisens aufgenommen, das entspricht etwa 1 mg pro Tag [146]. Wegen der beschränkten intestinalen Eisenresorptionskapazität wird der durchschnittliche Eisenbedarf durch die Rückgewinnung des freigesetzten Funktionseisens durch die Makrophagen des retikuloendothelialen Systems gedeckt. Über den Erythrozytenauf- und -abbau sowie den Umsatz von Enzym- und Speichereisen wird dem Körper mit ca. 25 mg pro Tag deutlich mehr Eisen bereitgestellt, als über die Nahrung aufgenommen werden kann [72, 110].

Die Regulation der Eisenbestände wird maßgeblich durch die Resorptionsquote im oberen Dünndarm bestimmt. Dort wird die Regulation maßgeblich durch das in der Leber gebildete Peptid Hepcidin bestimmt. Es reduziert die Eisenaufnahme in die Enterozyten und bremst gleichzeitig die Eisensfreisetzung aus den Enterozyten ins portale Blut [35]. Siehe hierzu auch Kapitel 1.3.3.

Im Blut wird Fe^{2+} zu Fe^{3+} oxidiert, um an das Transportprotein Transferrin gebunden zu den Zellen der verbrauchenden und speichernden Organe transportiert zu werden. Ein Überschuss an Eisen stimuliert die Synthese des Speicherproteins Ferritin, wo es „zwischengelagert“ werden kann. Auf diese Weise ist es möglich, die Eisenresorption dem tatsächlichen Eisenbedarf in gewissen Grenzen anzupassen. Ein Mangel an Eisen führt über eine gesteigerte Transferrinsynthese zu einer erhöhten Resorptions- und Transportkapazität. Eine ernährungsbedingte Eisenüberladung wird dagegen verhindert, indem nicht benötigtes Eisen als Ferritin abgespeichert und gegebenenfalls im Rahmen der physiologischen Zellumsetzung wieder ausgeschieden wird. Dieser Regulationsmechanismus (siehe Abbildung 1) kann jedoch langfristig keine großen Abweichungen des Eisenangebots vom tatsächlichen Eisenbedarf kompensieren [139].

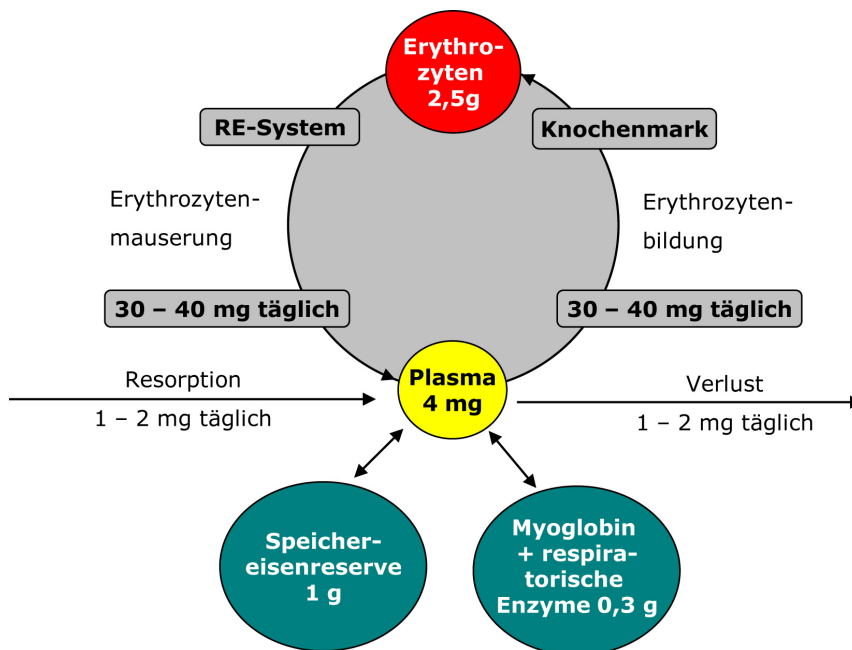


Abbildung 1: Verteilung und Regulation des Gesamtkörpereisens; RE-System: retikuloendotheliales System; nach Thomas et al. [142]

Transport: Die Verteilung und der Transport des aus den Enterozyten freigegebenen Eisens erfolgt durch die Bindung an Transferrin. Es kann maximal zwei Fe^{3+} -Ionen spezifisch binden und transportieren. 16 – 45 % der im Plasma befindlichen Transferrinmoleküle sind unter physiologischen Bedingungen mit Eisen abgesättigt [35]. Die so genannte Transferrinsättigung ist bei einem Eisenmangel erniedrigt.

Die Zellen der Zielorgane regulieren ihre Eisenaufnahme vom Transferrin über die gezielte Expression von Transferrinrezeptoren an der Zelloberfläche. Liegt ein intrazellulärer Eisenmangel vor, wird die Synthese des Transferrinrezeptors hochreguliert und somit die Dichte auf der Zelloberfläche erhöht. Damit soll eine individuelle Versorgung entsprechend dem Bedarf der Zelle gewährleistet werden [139, 146].

Speicherung: Ein Überangebot an Eisen wird über die Speicherung als Ferritin kompensiert. Darüber hinaus kann die Speicherung auch von dem halbkristallinen Kondensationsprodukt des Ferritins, dem Hämosiderin, erfolgen. Speicherorte sind vor allem die Leber, die Milz und das Knochenmark [146]. Eisen liegt demnach extrazellulär an Transferrin gebunden und intrazellulär als Ferritin gespeichert vor. Ungebunden kann Eisen toxisch wirken, da es in Kombination mit Sauerstoff freie Radikale bildet und DNA sowie Proteine schädigen kann [1].

Eisenbedarf: Bei gesunden, erwachsenen Männern sowie für Frauen nach der Menopause reicht die normale tägliche Eisenresorption von ca. 1 mg aus, um den etwa gleichgroßen Verlust auszugleichen. Ein erhöhter Eisenbedarf von bis zu 5 mg pro Tag besteht bei Jugendlichen, menstruierenden Frauen, Schwangeren, Blutspendern und bei Personen mit hoher körperlicher Belastung. Auch bei ausreichendem Eisenangebot in der Nahrung kann dieser Mehrbedarf nicht immer durch vermehrte Resorption gedeckt werden. In Folge dessen kann es zu einer zunehmenden Entleerung der Eisenspeicher kommen.

1.3 Eisenmangel

1.3.1 Ursachen des Eisenmangels

Eine ungenügende Eisenzufuhr, ein gesteigerter Bedarf oder erhöhter Verlust sowie eine verminderte Resorption von Eisen kann zu einer Verschlechterung der Eisenbilanz und damit zu einem Eisenmangel führen.

Eine verminderte Eisenaufnahme tritt bei inadäquater Ernährung (Diät, vegetarische Kost) auf. Bei bestimmten Subpopulationen (Heranwachsende, Schwangere, Hochleistungssportler, Hämolysenpatienten) kann der erhöhte Bedarf durch die tägliche Nahrungsaufnahme nicht gedeckt werden, so dass ein Defizit im Eisenhaushalt entsteht. Dies geschieht auch durch einen erhöhten Eisenverlust, welcher durch häufiges Blutspenden, die physiologische Regelblutung bei Frauen oder chronische gastrointestinale Erkrankungen verursacht wird [35]. Eine verminderte Resorption von Eisen kann z.B. bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen auftreten. In den letzten Jahren wird zunehmend das Peptid Hepcidin mit Eisenresorptionsstörungen in Verbindung gebracht [51, 100, 111].

1.3.2 Diagnostik

Symptome: Die klinischen Symptome bei einem Eisenmangel beinhalten allgemeine Krankheitszeichen wie z.B. Leistungsschwäche, Müdigkeit, Erschöpfung, Konzentrationsstörungen, beeinträchtigte aerobe Kapazität und Kopfschmerzen. Weitere Zeichen sind Mundwinkelrhagaden, blasse Konjunktiven sowie eine erhöhte Anfälligkeit für Infekte.

Abhängig vom Schweregrad werden drei Stadien des Eisenmangels unterschieden:

Stadium I - Speichereisenmangel: Eine negative Eisenbilanz führt zunächst zu einem Speichereisenmangel. Hier sind die Eisenspeicher vermindert, die Erythropoese wird jedoch noch adäquat mit Eisen versorgt. In diesem Stadium ergeben sich keine allgemeinen funktionellen Beeinträchtigungen. Bei Ausdauersportlern kann jedoch unter Umständen bereits eine Minderung der Leistungsfähigkeit auftreten (siehe Kapitel 1.4).

Stadium II – eisendefizitäre Erythropoese (IDE = Iron Deficiency Erythropoiesis): Bei der eisendefizitären Erythropoese ist die Versorgung der erythropoetischen Vorstufen im Knochenmark nicht mehr ausreichend. Ursächlich kann eine limitierte Eisenversorgung (Speichereisenmangel) bei normaler oder gesteigerter Erythrozytenproduktion verantwortlich sein. Wird eine verminderte Erythrozytenproduktion durch Stimulation der Erythropoese schnell gesteigert, hält auch hier die Eisenversorgung nicht mehr mit und es kommt zu einem funktionellen Eisenmangel. Dieser entsteht ebenfalls, wenn bei chronischen Erkrankungen das vorwiegend in den Makrophagen des retikuloendothelialen Systems gespeicherte Eisen auf Grund einer Eisenverteilungsstörung nicht ausreichend mobilisiert werden kann. Das Hämoglobin liegt in diesem Stadium noch im Normbereich.

Stadium III – Eisenmangelanämie (IDA = Iron Deficiency Anemia): In diesem Stadium ist die Hämoglobinkonzentration auf Grund einer inadäquaten Eisenversorgung vermindert und unterschreitet den alters-, bzw. geschlechtsspezifischen Normwert. Dieser beträgt nach der WHO 12 g/dl für Frauen und 13 g/dl für Männer [150102]. Es erfolgt in zunehmendem Maße eine Produktion von hämoglobinarmen, abnormen kleinen Erythrozyten. In diesem Fall liegt eine mikrozytäre hypochrome Anämie vor [139, 146].

1.3.3 Parameter des Eisenstoffwechsels

Der klinischen Praxis stehen verschiedene Parameter und Indizes zur Verfügung, um den Eisenstatus zu bestimmen.

Serumeisen: Die Eisenkonzentration im Serum ist zur Abschätzung des Körpereisenbestandes ungeeignet. Sie unterliegt zirkadianen Schwankungen im Tagesverlauf, wird durch Nahrungsaufnahme verändert und kann bei Entzündungen

und chronischen Erkrankungen unabhängig vom Eisenstatus erniedrigt sein [35, 139, 140].

Transferrin: Das Glykoprotein wird in der Leber synthetisiert und ist für den Transport des Eisens von seiner Resorptionsstelle (Duedenum und oberes Jejunum) zu den eisenverbrauchenden Geweben verantwortlich. Ein Transferrinmolekül kann maximal zwei Fe^{3+} -Ionen binden. Der Transferrinspiegel im Serum korreliert invers mit der Größe des Eisenpools, d.h., bei Eisenmangel ist ein Anstieg zu beobachten. Durch eine vermehrte Transferrinbildung sollen noch vorhandene Eisenreserven mobilisiert werden. Bei Vorliegen einer Entzündung lässt der Transferrinwert nur bedingt Rückschluss auf den Eisenhaushalt zu, da Transferrin im Rahmen einer Akute-Phase-Reaktion abfällt (siehe Ferritin).

Transferrinsättigung: Die Bestimmung der prozentualen Transferrinsättigung gilt als zuverlässige Kenngröße für das mobilisierte Transporteisen. Sie erfolgt über die Messung der physiologisch wirksamen Eisenbindung. Die Transportkapazität ist normalerweise mit etwa einem Drittel abgesättigt. Niedrige Werte sind mehrdeutig und können auf einen Eisenmangel, aber auch auf eine Eisenverteilungs- oder verwertungsstörung hinweisen. Die Transferrinsättigung gilt jedoch, wie die Serumeisenkonzentration, auf Grund ihrer kurzfristigen Schwankungen und schlechten Korrelation zu den Eisenreserven nicht als geeigneter Indikator für die Gesamtkörpereisenreserven. Erst in der Differentialdiagnostik, bei Zuständen mit hoher Serumferritinkonzentration, hat diese Kenngröße eine gewisse Bedeutung.

Ferritin: Diese Eisen-Eiweiß-Verbindung stellt die wichtigste Speicherform des Eisens im Organismus dar. Es kommt in nahezu allen Organen vor, wobei besonders in der Leber, der Milz und dem Knochenmark eine hohe Konzentration zu finden ist. Jede Zelle ist dazu befähigt, ein Überangebot an Eisen durch die Synthese von Ferritin aufzunehmen. Dabei wird ein repräsentativer Anteil des intrazellulär synthetisierten Ferritins als Apo-Ferritin an das Blutplasma abgegeben. Bei der Ferritinbestimmung im Serum wird die Apoferritinkonzentration gemessen und als Serumferritin angegeben. 1 mg Ferritin pro Liter ist repräsentativ für etwa 10 mg gespeichertes Eisen [29]. Die Serumferritinkonzentration ist demnach im Blut messbar und weist beim gesunden Erwachsenen und bei Patienten mit Eisenmangel eine direkte und quantitative Korrelation zum mobilisierbaren Speichereisen auf. Die Beziehung zwischen der Serumferritinkonzentration und den Eisenreserven gilt dabei für alle Stadien des Eisenmangels [146]. Die Bestimmung von Ferritin erlaubt somit einen Rückschluss auf den Füllungszustand der Gesamtkörpereisenspeicher und macht es zum wichtigsten

Marker hinsichtlich der Beurteilung der Eisenreserve. Bei Eisenmangel ist der Serumferritingehalt vermindert und unterschreitet die untere Normbereichsgrenze. Diese wird meist getrennt nach Geschlecht betrachtet [139, 146]. Ferritin ist jedoch auch ein Akute-Phase-Protein. Bei entzündlichen Prozessen, akuten Leberfunktionsstörungen, malignen Tumoren und nach intravenöser bzw. oraler Eisentherapie kann es durch vermehrte Ferritinfreisetzung zu falsch normalen oder hohen Werten kommen. Diese können einen Eisenmangel überdecken und somit die Aussagekraft hinsichtlich der Diagnose limitieren [8, 62, 77].

Löslicher Transferrinrezeptor: Alle Zellen mit Eisenbedarf regeln ihre Eisenaufnahme über die Expression des Transferrinrezeptors (TfR) auf der Zelloberfläche. Sind die intrazellulären Eisenvorräte erschöpft, d.h. die Ferritinkonzentration erniedrigt, werden mehr Transferrinrezeptoren exprimiert. Der Transferrinrezeptor ist ein integrales Membranglykoprotein, welches mit Eisen beladene Transferrinmoleküle bindet und in das Zytosol transportiert. Ca. 70-80 % der Transferrinrezeptoren befinden sich auf den erythropoetischen Vorläuferzellen des Knochenmarks. Die Regulation der Transferrinrezeptorexpression erfolgt nicht nur nach dem aktuellen Bedarf, sondern auch über das Eisenangebot im Serum. Ist der Eisenbedarf der Zelle groß und die Konzentration der Eisenionen gering, steigt die Expression des TfR ebenfalls. Ein repräsentativer Anteil für die Anzahl an Transferrinrezeptoren liegt, durch Proteolyse von der Zellmembran gelöst, im Plasma vor. Dieser so genannte lösliche (soluble) Transferrinrezeptor (sTfR) kann mit immunchemischen Methoden nachgewiesen werden und repräsentiert die Gesamtzahl der zellständigen Transferrinrezeptoren [133]. Eine Erhöhung des löslichen Transferrinrezeptors im Serum findet sich beim Eisenmangel durch die gesteigerte Rezeptorsynthese in erythrozytären Vorläuferzellen. Ein leerer Speichereisenpool vermindert das zur Verfügung stehende, an Transferrin gebundene Funktionseisen und bewirkt ebenfalls einen Anstieg des löslichen Transferrinrezeptors im Blut. Dieser Anstieg erfolgt früher als die Verminderung der Hämoglobinkonzentration und ist somit das früheste messbare Signal für einen Funktionseisenmangel. Dies gilt insbesondere in den verschiedenen klinischen Situationen, in denen der Eisenstoffwechsel durch zusätzlich bestehende chronische Erkrankungen, wie Lebererkrankungen, Infektionen oder Tumore komplex beeinflusst wird. Da die sTfR-Konzentration nur vom funktionellen Eisenkompartiment abhängig ist, wird sie nicht von den o.g. chronischen Erkrankungen beeinflusst [74, 117, 121, 129]. Die Bestimmung des löslichen Transferrinrezeptors im Serum kann also zur Messung der erythropoetischen Aktivität und der Eisenspeicher des Körpers eingesetzt werden [74, 133, 140].

Allerdings ist der Parameter sehr analyse- und kostenaufwendig. Die Referenzwerte sind vom verwendeten Assay abhängig, welche zudem noch nicht standardisiert sind. Die sTfR-Analyse erfolgte in der vorliegenden Studie mit dem „N Latex sTfR“ der Firma Dade Behring und gibt damit einen Referenzwert von 0,81-1,75 mg/l vor [66].

TfR-F-Index: Der Quotient aus dem sTfR-Wert und dem Logarithmus des Ferritinwertes ($\text{sTfR}/\log \text{ Ferritin}$) hat sich als ein brauchbarer Indikator der Eisenversorgung der Erythropoese erwiesen [137]. Der Index hängt vom Speichereisen, von der Verfügbarkeit des Eisens in der Erythropoese und von der Aktivität der Erythropoese ab. Da - im Gegensatz zur Ferritinkonzentration - die Konzentration von sTfR nicht durch Akute-Phase-Reaktionen, akute Leberfunktionsstörungen oder maligne Tumoren beeinflusst wird, ist eine Unterscheidung zwischen einer mit einer chronischen Erkrankung einhergehenden Anämie und einer Eisenmangelanämie möglich [77, 78, 117]. Bei Personen mit einem Speichereisenmangel ist der TfR-F-Index erhöht. Dabei scheint der Parameter nicht nur bei sonst gesunden Personen zu funktionieren, er erlaubt die Diagnose eines Eisenmangels auch bei Patienten mit chronischen Erkrankungen [35]. Der Index korreliert zudem gut mit dem Goldstandard zur Messung der Speichereisenreserve, der Berliner-Blau-Färbung von Knochenmarkgewebe [117]. Da die sTfR-Normwerte assayabhängig sind, ist zwangsläufig auch der Referenzbereich des TfR-F-Index vom verwendeten Testverfahren abhängig. Bei Verwendung des „N Latex sTfR“-Assays von Dade Behring beträgt der Referenzbereich z.B. 0,41-1,25 [66].

Mit modernen Hämatologieanalysatoren lassen sich auch direkte Eisenstoffwechselparameter messen. Der Hämoglobingehalt der Retikulozyten (CHr) und der prozentuale Anteil hypochromer Erythrozyten (%HYPO) haben dabei einen hohen Stellenwert in der Anämiediagnostik bezüglich eines Eisenmangels erlangt [18, 45]. Sie sind in der Lage, unterschiedliche Aussagen hinsichtlich der Eisenversorgung zu geben.

Hämoglobingehalt der Retikulozyten (CHr): Der Gehalt an Hämoglobin in den Retikulozyten wird an Einzelretikulozyten gemessen und ist als Maß für die Hämoglobinisierung der Retikulozyten im Knochenmark zu verstehen. Der Referenzbereich des Retikulozytenhämoglobins beträgt 28 bis 35 pg [139, 141]. Da er von der Eisenversorgung während der Erythropoese abhängig ist und das Retikulozytenstadium im peripheren Blut ein bis zwei Tage dauert, ist der CHr ein Indikator der aktuellen Eisenverfügbarkeit für die Erythropoese [141]. Bei einem funktionellen Eisenmangel nimmt der vorher normale Hämoglobingehalt der

Retikulozyten innerhalb von wenigen Tagen ab. Die Unterschreitung des CHr unter 28 pg bei normalem Prozentsatz hypochromer Erythrozyten signalisiert somit eine kurzfristig entstandene Eisenunterversorgung der Erythropoese. Der retikulozytäre Hämoglobingehalt ist ein aktueller und von zirkadianen Schwankungen unabhängiger Parameter, der im Rahmen einer Retikulozytenanalyse verfügbar ist. Er gilt derzeit als der stabilste Indikator eines Eisenmangels oder einer Eisenmangelanämie [5, 18].

Hypochrome Erythrozyten (% HYPO): Mit modernen Blutanalysegeräten lässt sich das Volumen sowie der Hämoglobingehalt jedes einzelnen Erythrozyten messen. Darüber hinaus kann der Anteil der hypochromen Erythrozyten (Hämoglobingehalt unter 28 pg) berechnet werden. Ein vermehrter Anteil von hypochromen Erythrozyten im peripheren Blut gilt als sensitiver Parameter für das Vorliegen einer eisendefizitären Erythropoese, da der Hämoglobingehalt der Einzelzelle von den Bedingungen während der Erythropoese abhängig ist. Der Anteil der hypochromen Erythrozyten spiegelt somit die Eisenversorgung der letzten Wochen wider.

Hepcidin: Das Peptidhormon spielt eine zentrale Rolle im Rahmen der Eisenhomöostase im Körper. Es wird in der Leber synthetisiert und steuert die zelluläre Eisenfreisetzung, indem es auf der Zelloberfläche an Ferroportin bindet und so die Fähigkeit der Zelle, Eisen freizusetzen, hemmt. Ferroportin ist ein Membrantransport-Protein, welches Eisenionen aus dem Zellinneren in den Extrazellulärraum transportiert und befindet sich daher in der Zellmembran von Darm-Epithelzellen, Leberzellen und Makrophagen. Hepcidin reguliert demnach die enterale Eisenaufnahme über den Darm sowie die Freisetzung von Eisen aus dem Duodenum, den Makrophagen und Hepatozyten ins Plasma. Bei der normalen Eisenhomöostase bewirkt ein Anstieg des Plasmaeisens eine Zunahme der Hepcidinfreisetzung aus der Leber [94]. Bei einem Eisenmangel, einer Anämie oder Hypoxie wird die Hepcidinproduktion in der Leber vermindert, um die Eisenaufnahme im Darm zu steigern [35]. Hepcidin und sein Vorläufer das Pro-Hepcidin können im Blut und Urin nachgewiesen werden.

1.4 Einfluss sportlicher Belastung auf den Eisenstoffwechsel und das rote Blutbild

1.4.1 Bedeutung von Eisen im Sport

Eisen spielt eine entscheidende Rolle für die Leistungsfähigkeit, insbesondere im Ausdauersport. Hier ist eine optimale Versorgung und Ausnutzung von Sauerstoff die wichtigste Grundvoraussetzung. Eisen ist als Bestandteil vieler Enzym- und Proteinsysteme im Bereich des Sauerstofftransportes und der -verwertung sowie der mitochondrialen Energiegewinnung in der Atmungskette unerlässlich. Des Weiteren spielt das Spurenelement bei der Thermoregulation und im Laktatstoffwechsel eine wichtige Rolle.

Ausdauersportler, vor allem Frauen, sind besonders gefährdet, eine Eisenmangelanämie zu entwickeln [11, 76, 77, 109, 121, 129, 148]. Als Ursache werden ein erhöhter belastungsinduzierter Verlust an Eisen, eine zum Bedarf inadäquate Eisenaufnahme oder auch belastungsbedingte Resorptionsstörungen angegeben. Der vermehrte Eisenverlust resultiert u.a. aus intravaskulärer Hämolyse bzw. belastungsinduzierten Mikroblutungen im Darm bzw. der Blase. Auch über vermehrte Schweiß- und Urinausscheidung geht zusätzlich Eisen verloren. Nicht zuletzt wird eine nach hochintensiven Dauerläufen beobachtete Makrohämaturie auf Grund einer mechanischen Zerstörung von Erythrozyten in der Fußsohle diskutiert [26].

Durch Eisenmangel und dessen vielgestaltige Symptomatik können die o.g. zusammenhängenden Prozesse negativ beeinflusst werden. Liegt ein Mangel an Eisen vor, kann es im weiteren Verlauf zu einer verminderten Bildung von Hämoglobin kommen und damit zu einer defizitären Erythropoese. Die darauf folgende Reduktion der Sauerstofftransportkapazität und der funktionellen Sauerstoffkapazität der Zellen zeigt sich letztendlich in einer begrenzten Leistungsfähigkeit. Ab wann die sportliche Leistungsfähigkeit messbar beeinträchtigt ist, wird nach wie vor kontrovers diskutiert. Dass bereits eine milde Anämie die Leistungsfähigkeit beeinträchtigen kann, wurde vielfach nachgewiesen [10, 54, 92, 129]. Klinische Symptome wie Erschöpfung, beeinträchtigte aerobe Kapazität, erhöhte Herzfrequenz sowie die Rechtsverschiebung der Laktat-Leistungskurve sind Anzeichen dafür. Fraglich ist, ob ein Speichereisenmangel mit einhergehenden niedrigen Ferritinwerten bereits leistungsmindernde Auswirkungen hat. Während einige Studien keine Verbesserung der Leistungsfähigkeit

(VO₂max, anaerobe Schwelle) auf Grund von oraler Eisentherapie fanden [47, 65, 97], zeigten andere Studien, dass sich durch eine Substitution bei Eisenmangel ohne Anämie die aerobe Kapazität signifikant verbessert [17, 58].

1.4.2 „Pseudoanämie“ – subnormales rotes Blutbild

Eine defizitäre Erythropoese, welche auf Grund von Eisenmangel weniger Erythrozyten produziert, ist eine häufige Ursache für eine Anämie. Sie ist definiert durch eine Verminderung der Hämoglobinkonzentration und/oder des Hämatokrits und/oder der Anzahl der Erythrozyten. Solche subnormalen Blutwerte sind jedoch, speziell bei Ausdauerathleten, nicht zwangsläufig ein Indikator für eine Anämie.

Zahlreiche Studien berichten von einem subnormalen Blutbild bei Ausdauertrainierten im Vergleich zu Untrainierten [9, 23, 48, 124, 130, 139, 144]. Das Phänomen „Pseudoanämie“, welches fälschlicherweise oft als „Sportleranämie“ bezeichnet wird, beruht auf einer im Verhältnis zur roten Zellmasse überproportionalen Zunahme des Plasmavolumens. Die Folge ist eine Hämodilution. Bei Ausdauersportlern führt die belastungsinduzierte, gesteigerte Erythropoese zu einer Zunahme des Plasmavolumens und zu einer Vermehrung der Erythrozyten. Daraus resultiert eine höhere aerobe Leistungsfähigkeit und ist damit eine physiologische Adaptation des Organismus an eine regelmäßige Ausdauerbeanspruchung. Auf Grund der Tatsache, dass das Plasmavolumen im Vergleich zum Erythrozytenvolumen überproportional vergrößert ist (z.B. Plasmavolumen: +485 ml versus Erythrozytenvolumen: +334 ml [124]), resultiert eine verminderte Konzentration der Erythrozyten, des Hämoglobins und somit auch ein verminderter Hämatokrit, so dass die Werte bei Ausdauersportlern häufig im unteren Normbereich oder sogar leicht erniedrigt sind. Bei Ausdauersportlern ist diese überproportionale Erhöhung des Plasmavolumens jedoch überwiegend positiv zu bewerten, da der erniedrigte Hämatokritwert die Viskosität des Blutes und damit die Herzarbeit vermindert [124]. Die Vergrößerung des Plasmavolumens spielt außerdem für die Thermoregulation und die Erhaltung ihrer Homöostase eine wesentliche Rolle. Die subnormalen Konzentrationswerte im roten Blutbild (Verdünnungs- oder Pseudoanämie) dürfen in diesem Fall nicht im Sinne einer klassischen Anämie fehlinterpretiert werden. Ihnen kommt kein Krankheitswert zu. Auch die Leistungsfähigkeit wird dadurch nicht eingeschränkt. Im Gegenteil, absolut gesehen vergrößern sich die Erythrozytenzahl und damit die Sauerstofftransportkapazität [130].

Grundsätzlich muss immer bedacht werden, dass natürlich auch Sportler eine krankheitsbedingte Anämie entwickeln können und eine weitere Differenzialdiagnostik erforderlich ist.

1.4.3 Problematik der Eisenmangeldiagnostik im Ausdauersport

Für die Diagnostik eines Eisenmangels stehen dem klinischen Labor verschiedene Parameter und Indizes zur Verfügung. Von den klassischen Eisenstoffwechselparametern sind jedoch nur wenige geeignet, den tatsächlichen Eisenstatus anzuzeigen, da sie durch sportliche Aktivität per se beeinflusst werden können [121, 120]. Die Analyse gängiger Blutbildparameter wie Hämoglobinwert, mittleres zelluläres Volumen (MCV) oder mittlere zelluläre Hämoglobinkonzentration (MCH) ist nicht nur insuffizient bei der Diagnostik von Eisenmangelzuständen bei Sportlern (siehe Kapitel 1.4.2). Um frühe Einschränkungen in der Eisenversorgung der Erythropoese zu erkennen, sind die Veränderungen dieser Parameter auch zu langsam, da sie erst nach Wochen signifikante Veränderungen zeigen [56].

Ferritin wird meist als wichtigster Parameter gemessen, um Informationen über den Eisenhaushalt zu erhalten. Der Referenzbereich für physisch Untrainierte liegt bei 20-300 ng/ml [110]. Hier besteht ein praktisch linearer Zusammenhang zwischen dem gemessenen Serumferritin und der Größe des Eisenspeichers [29, 99]. Ferritin ist jedoch, wie bereits beschrieben, ein Akute-Phase-Protein. Auch körperliche Belastungen führen auf Grund von entzündungsähnlichen Reaktionen zu einer Akute-Phase-Reaktion [129]. Die Ferritinkonzentration kann dann für einige Tage um $\approx 20\%$ erhöht sein. Ein bestehender Eisenmangel ist daher in Zeiten mit oder nach hoher körperlicher Belastung nicht erkennbar.

Die Referenzwerte für Ferritin zur Beurteilung des Eisenstatus von Athleten stammen oft aus der Durchschnittspopulation. Dies führt oft zu Fehlinterpretationen. In der Literatur findet sich für die Subpopulation von Sportlern nach wie vor kein einheitlicher unterer Grenzwert (Cut-off) hinsichtlich der Diagnose eines Eisenmangels. Die Werte differieren von ≤ 12 bis 30 ng/ml (Tabelle 1). Der Cut-off stellt jedoch oft den Entscheidungsparameter für eine Eisensupplementation dar. Wird der Cut-off zu hoch angesetzt, würden sehr viele Athleten, insbesondere Frauen, unnötig supplementiert.

Tabelle 1: Übersicht unterschiedlicher Cut-offs für Ferritin bei Sportlern

Autor	Ferritin [ng/ml]
Cook [30]	≤ 12
Nickerson et al. [9897]	≤ 20
Zhu et al. [151]	≤ 12
Pitsis et al. [112]	≤ 30
Malczewska et al. [76]	≤ 20
Pate et al. [105]	≤ 20
Di Santolo et al. [34]	≤ 12
Hinton et al. [59]	≤ 16
Mettler [86]	20-25

Viele Autoren nehmen an, dass die Wahrscheinlichkeit einer Beeinträchtigung der physischen Leistungsfähigkeit relativ groß und eine Intervention angezeigt ist, wenn das Ferritin unter 20 ng/ml fällt [17, 151, 58, 53]. Ein Cut-off für Ferritin von < 20 ng/ml scheint aus diesen Überlegungen für Ausdauersportler sinnvoll zu sein. In der vorliegenden Studie wird dieser, analog zu anderen Studien, für beide Geschlechter verwendet [38, 49, 76].

In den letzten Jahren wurde zunehmend der lösliche Transferrinrezeptor (sTfR) als sensitiver und spezifischer Marker für einen Eisenmangel bei Sportlern verwendet. Im Gegensatz zum Ferritin wird der sTfR nicht durch inflammatorische Zustände oder sportliche Belastungen beeinflusst. Röcker et al. belegen, dass die sTfR-Werte selbst unmittelbar nach einer Ausdauerbelastung (Triathlon) praktisch unbeeinflusst sind [121]. Die sTfR-Bestimmung hat in Folge dessen eine große Bedeutung bei der Erkennung und Verlaufskontrolle eines Speichereisenmangels bei gleichzeitiger Akute-Phase-Reaktion mit folglich nicht-repräsentativ erhöhter Ferritinkonzentration. In solchen Fällen spricht ein erhöhter sTfR trotz nicht vermindertem Ferritin für einen Speichereisenmangel. Mehrere Autoren empfehlen deshalb den sTfR als zuverlässigen und stabilen Marker für die Diagnose eines Eisenmangels, vor allem im Ausdauersport [74, 77, 121, 129, 145].

Mit Ferritin als Marker für die Eisenspeicher und dem löslichen Transferrinrezeptor als Parameter für das „funktionelle“ Kompartiment bilden zwei sensible Marker des Eisenstoffwechsels als Quotient den TfR-F-Index. Viele Autoren werten diesen Index als einen besseren und sensibleren Marker, als die Ferritin- oder sTfR-Konzentration

allein [1, 3, 8, 102, 115, 116]. Malczewska et al. empfehlen den TfR-F-Index für die Diagnose eines Eisenmangels bei Athleten, insbesondere bei Störungen der Erythropoese [77].

Die Parameter Ferritin, sTfR und der TfR-F-Index werden zusammen mit der Hämoglobinkonzentration als Entscheidungsparameter für die Einteilung der Stadien des Eisenmangels in der vorliegenden Studie verwendet (Tabelle 2). An Hand dieser Kriterien werden die Probanden der Studie hinsichtlich ihres Eisenstatus bewertet. Folglich werden Probanden mit Ferritin > 20 mg/ml, sTfR < 1,76 mg/l, TfR-F-Index $\leq 1,25$ und einem Hämoglobin von > 12 bzw. 13 g/dl als „gesund“ hinsichtlich ihres Eisenstatus definiert.

Tabelle 2: Stadien des Eisenmangels; * für Frauen, ** für Männer

	Normalzustand (=gesund)	Speichereisen- mangel	eisendefizitäre Erythropoese (IDE)	Anämie (IDA)
Ferritin [ng/ml]	> 20	< 20	< 20	< 20
sTfR [mg/l]	< 1,76	< 1,76	> 1,76	> 1,76
TfR-F-Index [TfR/log Ferritin]	$\leq 1,25$	$\leq 1,25$	> 1,25	> 1,25
Hb [g/dl]	> 12*/ 13**	> 12*/ 13**	> 12*/ 13**	< 12*/ 13**

1.4.4 Neue Parameter für die Eisenmangeldiagnostik bei Ausdauersportlern?

Die o.g. biochemischen Parameter sind so genannte indirekte Marker des Eisenstoffwechsels. Mittels moderner Hämatologie-Analysegeräte ist es möglich, direkte Parameter der Eisenversorgung der Erythropoese zu messen. Der Hämoglobingehalt der Retikulozyten (CHR) und der prozentuale Anteil hypochromer Erythrozyten (%HYPO) haben vor allem in der Differenzialdiagnose einen hohen Stellenwert bezüglich eines Eisenmangels erlangt [18, 45, 138, 141]. Im Gegensatz zu den biochemischen Eisenstoffwechselparametern lassen sie sich im Rahmen einer Routineblutuntersuchung einfach und kostengünstig bestimmen. Bislang wurde die diagnostische Validität dieser hämatologischen Parameter v.a. bei Patienten mit einer Anämie bei chronischen Erkrankungen bzw. Hämolysenpatienten untersucht. Viele Studien bestätigen eine hohe Sensitivität und Spezifität für beide Parameter [40, 81, 82, 89, 68].

Die Anämie chronischer Erkrankungen (Infekt-, Tumor- und Entzündungsanämien - Anemia of Chronic Disorders - ACD) gehen in der Regel mit inflammatorischen Zuständen einher und haben in Folge dessen hochnormale oder erhöhte Ferritinwerte bei niedrigem Serumeisen. Die Problematik eines nicht feststellbaren Speichereisenmangels entspricht der von Ausdauersportlern. Es wird daher angenommen, dass der CHR und der % HYPO auch im Sport für eine suffiziente Eisenmangeldiagnostik herangezogen werden können. Bislang gibt es jedoch nur wenige Studien, welche die Validität der neuen Parameter unter sportlicher Belastung geprüft haben. Ashenden et al. [5] untersuchten verschiedene Retikulozytenindizes während einer viermonatigen intensiven Trainingsperiode bei Sportlern verschiedener Sportarten (Basketball, Boxen, Rudern usw.). Die Indizes zeigten nur geringfügige Veränderung im zeitlichen Verlauf und wurden als besonders stabil bewertet. Eine weitere Studie von Fallon et al. [42] zeigte ebenfalls eine hohe Stabilität dieser Parameter während eines 6-Tage-Ultramarathons. Auch für das Monitoring im Rahmen einer Eisensupplementation werden Retikulozytenindizes empfohlen.

Der Einfluss einer sportlichen Belastung auf das Peptidhormon Hepcidin wurde ebenfalls nur wenig untersucht. Eine Up-Regulation des Hepcidins bei inflammatorischen Zuständen wurde in Studien mit Normalkollektiven bereits belegt [52, 61, 93]. Die Annahme, dass die Hepcidinkonzentration auch in Folge sportlicher Belastung ansteigt und somit die Eisenresorption sowie die Eisenfreisetzung im RES

hemmt, lässt einen neuen Regelmechanismus des Eisenmangels bei Sportlern vermuten. Röcker et al. untersuchten bereits den Einfluss eines Marathonlaufes auf die Hepcidinkonzentration im Urin und fanden eine Erhöhung nach dem Lauf [123].

1.5 Ziele der Arbeit

Aus den vorherigen Ausführungen ergeben sich folgende Fragestellungen und Ziele für diese Arbeit:

1. Derzeit liegen noch keine spezifischen Referenzwerte für den CHr und den % HYPO in Bezug auf die Diagnostik eines Eisenmangels für die Subpopulation von Ausdauersportlern vor. Durch Blutuntersuchungen mit hohen Probandenzahlen sollen spezifische Referenzwerte für den CHr und den % HYPO bei Ausdauersportlern bestimmt werden.
2. Durch gezielt veränderte präanalytische Bedingungen soll der Einfluss verschiedener Sportarten sowie Belastungsintensitäten und -umfänge in Bezug auf die diagnostische Effizienz der neuen Parameter überprüft werden. Es soll die Fragestellung beantwortet werden, ob es mittels des CHr und/oder des % HYPO möglich ist, nach regenerativen, extensiven oder intensiven Belastungen in unterschiedlichen Sportarten, den Eisenstatus spezifisch, sensitiv und reproduzierbar zu bestimmen.
3. Darüber hinaus soll bewertet werden, inwieweit die Parameter schnell und sensibel ein Monitoring bei Eisensupplementation zulassen.
4. Das neu entdeckte Peptidhormon Hepcidin gilt als zentraler Eisenregulator mit großem Einfluss auf die Resorption. Welche Veränderungen in Folge sportlicher Belastungen auftreten und welche neuen Regelmechanismen sich möglicherweise für den Eisenstoffwechsel bei Ausdauersportlern ergeben, wird ebenfalls mit dieser Studie geprüft werden.
5. Abschließend soll die Validität der modernen Eisenstoffwechselparameter CHr und % HYPO für die Diagnose eines Eisenmangels bei Ausdauersportlern beurteilt werden. Ziel ist es, die neuen Parameter für die Praxis nutzbar zu machen.

2 Methoden

Bei insgesamt 222 Ausdauersportlern wurden Untersuchungen zum Eisenhaushalt durchgeführt. Bei allen Probanden erfolgte eine einmalige Ruheblutabnahme. Darüber hinaus wurden auf Grund differenter Fragestellungen kleinere Probandengruppen zusammengestellt, bei denen weitere Untersuchungen vorgenommen wurden.

Für die allgemeine Darstellung von Blutbild- und Eisenstoffwechselfparametern wurden 131 der 222 Ruheblutentnahmen von männlichen und weiblichen Ausdauersportlern herangezogen, die keine Auffälligkeiten in Bezug auf ihren Eisenstatus zeigten (entspricht dem Zustand „gesund“ gemäß Tabelle 2). Ein weiterer Untersuchungsblock umfasste die gezielte Veränderung präanalytischer Einflussfaktoren auf die neuen Parameter der Eisenstoffwechseldiagnostik. Dafür wurden 30 Ausdauersportler aus den Sportarten Schwimmen, Laufen und Radfahren zusätzlich sportartspezifisch bei verschiedenen Intensitäten (regenerativ, intensiv, extensiv) belastet. Außerdem wurden Veränderungen der Parameter in Folge eines Marathons bei 75 Läuferinnen und Läufern dokumentiert. In einem weiteren Studienabschnitt wurden Blutbild- und Eisenstoffwechselfparameter von 10 Probanden mit Eisenmangel unter medikamentöser Eisentherapie beobachtet und ausgewertet. Für die Beurteilung der diagnostischen Effizienz moderner Eisenstoffwechselfparameter und zur Erstellung spezifischer Referenzwerte für Ausdauersportler wurden die Ruheblutentnahmen des Gesamtkollektives herangezogen.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Charité-Universitätsmedizin Berlin geprüft und bewilligt. Die Untersuchungen wurden in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Jeder Proband wurde vor Beginn der Untersuchungen über alle Details des Studiendesigns mündlich und schriftlich aufgeklärt. Mit ihrer schriftlichen Einverständniserklärung genehmigten die Probanden, dass ihre Daten anonym ausgewertet und veröffentlicht werden dürfen.

2.1 Probanden

Für die Studie wurden Ausdauersportler und -sportlerinnen rekrutiert. Alle Probanden waren aus sportmedizinischer Sicht tauglich. Voraussetzung für die Teilnahme an der Studie war ein wöchentlicher Trainingsumfang von mindestens fünf Stunden. Sportler mit akuten Erkrankungen oder einer regelmäßigen Eisensubstitution wurden

ausgeschlossen. Mittels Fragebogen wurden anthropometrische und (trainings-) anamnestische Daten aufgenommen. Bzgl. des Anamnesebogens wird auf den Anhang verwiesen. Bei medizinischen Auffälligkeiten erfolgte eine anschließende Abklärung und ggf. der Ausschluss von der Studie.

2.1.1 Gesamtkollektiv

An der Gesamtstudie nahmen 222 Ausdauersportler, davon 127 weibliche und 95 männliche, teil. Das mittlere Alter betrug 29 Jahre, das mittlere Trainingsalter der Probanden lag bei 5 Jahren, der wöchentliche Trainingsumfang bei 9 Stunden. Die anthropometrischen und trainingsanamnestischen Daten sind, nach Geschlecht differenziert, in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Anthropometrische und trainingsanamnestische Daten des Gesamtkollektives (Median, 25./75. Perzentil); n=222

	Männer (n=95)		Frauen (n=127)	
	Median	[25./75. Perzentil]	Median	[25./75. Perzentil]
Alter [Jahre]	25,0	[20,0 / 31,0]	33,0	[26,2 / 38,3]
Körpermasse [kg]	74,0	[69,0 / 78,0]	61,5	[57,0 / 66,0]
Körperhöhe [cm]	181,0	[176,0 / 186,0]	169,0	[164,0 / 173,0]
Trainingsalter [Jahre]	7,0	[4,0 / 11,0]	5,0	[3,0 / 8,0]
Trainingsumfang/Woche [h]	12,0	[8,0 / 18,0]	6,0	[5,0 / 10,0]

2.1.2 Probandengruppe Belastungstest

Für diesen Studienabschnitt wurden 30 gesunde männliche Ausdauersportler (10 Schwimmer, 10 Radfahrer und 10 Läufer) der regionalen bis nationalen Spitze rekrutiert. Das mittlere Trainingsalter der Probanden lag bei 9 Jahren, der wöchentliche Trainingsumfang bei 18,9 Stunden und die aktuelle VO_2 max bei 63,3 ml/min/kg. Die anthropometrischen und trainingsbezogenen Daten können der Tabelle 4 entnommen werden.

Tabelle 4: Anthropometrische und trainingsanamnestische Daten der Probanden (Median, 25./75. Perzentil); n=30

	Median	25. Perzentil	75. Perzentil
Alter [Jahre]	20,0	18,0	24,5
Körpermasse [kg]	76,0	69,0	78,0
Körperhöhe [cm]	183,5	177,0	187,0
Trainingsalter [Jahre]	9,0	7,0	11,0
Trainingsumfang/ Woche [h]	18,9	15,0	21,0
VO₂ max [ml/min/kg]	63,3	60,5	67,2

2.1.3 Probandengruppe Marathon

Der Probandenpool setzte sich aus 75 Marathonläuferinnen und -läufern aus dem Breitensportbereich zusammen, welche am real,- BERLIN MARATHON teilnahmen. Die anthropometrischen und trainingsbezogenen Daten sind, nach Geschlecht differenziert, in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Anthropometrische und trainingsanamnestische Daten der Probanden (Median, 25./75. Perzentil); n=75

	Männer (n=40)		Frauen (n=35)	
	Median	[25./75. Perzentil]	Median	[25./75. Perzentil]
Alter [Jahre]	38,7	[34,2 / 41,8]	37,5	[30,2 / 40,0]
Körpermasse [kg]	77,0	[70,4 / 82,6]	62,0	[54,5 / 67,0]
Körperhöhe [cm]	181,5	[176,8 / 183,5]	168,0	[163,0 / 172,0]
Trainingsalter [Jahre]	3,5	[2,0 / 5,8]	5,0	[3,0 / 10,0]
Marathonzeit [h]	3:50	[3:29 / 4:07]	4:18	[4:02 / 4:31]

2.1.4 Probandengruppe Substitution

Für diesen Studienabschnitt wurden drei männliche und sieben weibliche Ausdauersportler mit einem Speichereisenmangel (Ferritin < 20 ng/ml und/oder sTfR > 1,76 mg/l bzw. TfR-F-Index $\geq 1,25$) aus dem Gesamtkollektiv gewählt. Die anthropometrischen und trainingsbezogenen Daten können der Tabelle 6 entnommen werden.

Tabelle 6: Anthropometrische und trainingsanamnestische Daten der Probanden - Alter, Körperhöhe (KH), -masse (KM), Trainingsalter (TA), Trainingsumfang pro Woche (TU/Woche); (Median, 25./ 75. Perzentil); Männer n=3, Frauen n=7

Proband	Alter	KM	KH	TA	TU/Woche
	[Jahre]	[kg]	[cm]	[Jahre]	[h]
P1	19	68	176	10	11
P2	18	56	175	7	17
P3	19	57	173	5	16
P4	23	64	169	10	18
P5	37	62	168	8	7
P6	19	59	175	1	10
P7	39	57	168	5	6
P8	35	75	180	2	7
P9	36	59	171	6	5
P10	19	61	183	12	10
Median	21	61,5	175	6,5	10,5
25. Perzentil	19	59	171	4	7
75. Perzentil	35	68,6	180	10	16

2.2 Studiendesign

2.2.1 Analyse klassischer und moderner Blutbild- und Eisenstoffwechselfparameter mit Erstellung spezifischer Referenzwerte für Ausdauersportler

Es erfolgte eine einmalige Blutentnahme. Die Probanden wurden angewiesen, sich am Tag der Untersuchung keiner physischen Belastung auszusetzen und zwei Stunden vor der Blutentnahme keine Nahrung mehr aufzunehmen.

2.2.1.1 Venöse Blutentnahmen

Nach einer Ruhephase im Liegen von mindestens fünf Minuten wurden für das große Blutbild und die Bestimmung der Retikulozyten 2,7 ml Blut in einem EDTA-Röhrchen, für die Serumuntersuchungen (Ferritin, sTfR) 7,5 ml in einem Serum-Röhrchen entnommen. Die Blutentnahme erfolgte mit EDTA- bzw. S-Monovetten (Sarstedt, Nümbrecht, Germany) als Venenpunktat aus der Vena cubitalis.

Alle Proben wurden kühl gelagert (+ 4°C) und innerhalb von vier Stunden bezüglich der vorher festgelegten Parameter analysiert. Hinsichtlich der analytischen Methodik wird auf das Kapitel 2.3 verwiesen.

2.2.2 Einfluss intensiver, extensiver und regenerativer sportlicher Belastungen auf die modernen Eisenstoffwechselfparameter

Um den Einfluss verschiedener sportlicher Belastung auf die Eisenstoffwechselfparameter zu beurteilen, wurden jeweils 10 Probanden aus den Sportarten Schwimmen, Laufen und Radfahren aufgefordert, sich jeweils einer intensiven, extensiven und regenerativen Belastung auszusetzen. Für die Erstellung individueller Belastungsvorgaben für die darauf folgenden Untersuchungen wurde die aktuelle individuelle (Ausdauer-)Leistungsfähigkeit mit einem sportartspezifischen Stufentest ermittelt. Die Methoden der sportartspezifischen Leistungsdiagnostiken werden im Folgenden beschrieben.

Schwimmen: Die Sportler absolvierten einen schwimmspezifischen Stufentest (nach Pansold et al. [106]) über 7 x 200m in der Hauptlage in einem 50m-Schwimmbecken. Die Zeitvorgaben richteten sich nach der aktuellen 200m-Bestzeit, wobei die erste Stufe bei 70 % und die letzte bei 100 % der Bestzeit geschwommen werden sollte. In der einminütigen Pause zwischen den Stufen, bei Belastungsende sowie drei, fünf und zehn Minuten nach Beendigung des Tests wurde Kapillarblut zur Laktatbestimmung aus dem hyperämisierten Ohrläppchen entnommen.

Rad: Der Stufentest wurde auf einem Fahrradergometer (Newton Ergolab, Fa. Lode, Groningen Niederlande) durchgeführt. Begonnen wurde mit einer Belastung von 0 Watt. In Intervallen von drei Minuten wurde die Belastung jeweils um 50 Watt gesteigert. Die Laktatbestimmung erfolgte in Ruhe, jeweils 15 Sekunden vor Beendigung einer Belastungsstufe sowie sofort, eine, drei, fünf und zehn Minuten nach Abbruch des Tests. Als Zeichen der Ausbelastung wurden die subjektive Erschöpfung der Probanden, ein Abfall der Tretfrequenz unter 60 U/min, das Levelling-off der Sauerstoffaufnahme und/oder ein respiratorischer Quotient von $> 1,12$ herangezogen. Während des Stufentests wurden spiroergometrische Daten (Sauerstoffaufnahme, Kohlendioxidabgabe und die daraus ableitbaren Parameter) mit dem Oxycon Beta (Jaeger bzw. Viasys Health Care GmbH, Höchberg, Deutschland) aufgezeichnet.

Lauf: Die Läufer absolvierten einen Stufentest auf dem Laufbandergometer (HP Cosmos Saturn 300-100, Fa. H-P Cosmos Sportgeräte GmbH, Nussdorf, Deutschland) mit einer Steigung von 1 %. Der Test entspricht den Empfehlungen des Bundesausschusses für Leistungssport (BAL). Das Belastungsprotokoll startete mit einer Geschwindigkeit von 1,5 m/s. Jeweils nach drei Minuten Stufendauer wurde die Geschwindigkeit um 0,5 m/s gesteigert. Die Laktatkonzentration wurde vor Testbeginn, während der 30 Sekunden andauernden Pausen nach jeder Stufe sowie eine, drei, fünf und zehn Minuten nach Belastungsabbruch aus dem Kapillarblut des hyperämisierten Ohrläppchens bestimmt. Begleitend erfolgte ebenfalls die Erfassung spiroergometrischer Daten (s.o.).

2.2.2.1 Laktatanalyse und Bestimmung der IAS

Die Laktatkonzentration wurde mit dem ECA PD10 (Medingen GmbH, Firmen Gruppe Preiss-Daimler, Dresden, Deutschland) gemessen. Dieses Gerät arbeitet nach dem enzymatischen-amperometrischen Messprinzip. Die individuelle anaerobe Schwelle

(IAS) wurde nach dem Laktat-Schwellenkonzept von Stegmann und Kindermann bestimmt [136].

2.2.2.2 Untersuchungsablauf

An drei Untersuchungstagen wurden die Probanden aufgefordert, jeweils eine

- a) regenerative Belastung: 50-70 % der IAS über 30 min,
- b) extensive Belastung: 80 % der IAS über 60 min und
- c) intensive Belastung: 110 % der IAS über max. 30 min

zu absolvieren. Die individuellen Belastungsvorgaben wurden an Hand der individuellen anaeroben Schwelle ermittelt und in Form von Zeit-, Herzfrequenz- und Wattangaben vorgegeben. Die Einhaltung der Vorgaben wurde durch Laktatbestimmungen unmittelbar vor und nach Belastungsende kontrolliert.

Die venösen Blutentnahmen zur Bestimmung von Blutbildparametern und zellulären Parametern erfolgten jeweils unmittelbar vor (prä) sowie sofort, eine, sechs und 24 Stunden nach Belastungsende. Bei der Eingangsuntersuchung wurden darüber hinaus die Ferritin- und die sTfR-Konzentration im Serum sowie das Protein Pro-Hepcidin bestimmt. Hinsichtlich der venösen Blutentnahmen wird auf das Kapitel 2.2.1.1 verwiesen.

2.2.3 Einfluss eines Marathonlaufes auf moderne Eisenstoffwechselparameter

Der Einfluss einer hohen Ausdauerbelastung wurde im Rahmen eines Marathonlaufes untersucht. Bei dem Probandenkollektiv (n=75) wurde vor (prä) sowie direkt nach dem Lauf (sofort post) Blut abgenommen. Unter ihnen befanden sich 18 Probandinnen, die an weiteren Blutabnahmen, jeweils einen, drei und acht Tage nach dem Marathon (d1, d3, d8) teilnahmen. Hinsichtlich der venösen Blutentnahmen wird auf das Kapitel 2.2.1.1 verwiesen. Es wurden jeweils das große Blutbild sowie die Retikulozytenindizes bestimmt. Bei den Probandinnen, die an fünf Untersuchungsterminen teilnahmen (prä bis d8, n=18), wurden zusätzlich die Eisenstoffwechselparameter Ferritin, löslicher Transferrinrezeptor und der TfR-F-Index bestimmt.

2.2.4 Verhalten modernder Eisenstoffwechselfparameter unter Substitution

Nach erneuter Eingangsuntersuchung mit Bestimmung von Ferritin- und sTfR-Konzentration im Serum erhielten die Probanden über sieben Wochen eine Eisensubstitution mit Eryfer® 100 Kapseln (Cassella-med GmbH & Co. KG), jeweils eine Kapsel täglich. Eine Kapsel Eryfer® 100 enthält 304 mg Eisen(II)-sulfat-1-H₂O, das entspricht 100 mg Eisen. Wöchentlich erfolgte ein Monitoring des großen Blutbildes, der Retikulozytenindizes sowie der Eisenstoffwechselfparameter Ferritin und sTfR. Hinsichtlich der venösen Blutentnahmen wird auf das Kapitel 2.2.1.1 verwiesen.

2.3 Blutanalytik

Mit Ausnahme von Pro-Hepcidin erfolgten alle Blutanalysen im Labor 28 (Labor 28 AG, Berlin, Deutschland). Die DRG Instruments GmbH übernahm die Analyse des Peptidhormons Pro-Hepcidin.

2.3.1 Analyse der Eisenstoffwechselfparameter

Für die Analyse des Eisenstatus wurden u.a. die Parameter Ferritin und löslicher Transferrinrezeptor bestimmt. Die Analyseverfahren werden im Folgenden genannt und kurz erläutert.

Die Serum-Ferritin-Konzentration wurde mit dem Chemielumineszenz Mikropartikel-Immunoassay am Architect (Firma Abbott, Wiesbaden, Deutschland) ermittelt. Der Test ist ein Zwei-Schritt-Immunoassay. Im ersten Schritt werden Proben und Mikropartikel vermischt. Der Analyt bindet sich in der Inkubationsphase an die Mikropartikel und bildet einen Immunkomplex. Durch Waschen wird ungebundenes Material entfernt. Im zweiten Schritt wird Konjugat hinzugegeben, welches sich an den Immunkomplex bindet und so den Sandwichkomplex aus Antikörper, Analyt und Konjugat vervollständigt. Durch Zugabe von Pre-Trigger und Triggerlösung wird die Chemielumineszenzreaktion ausgelöst, die in relativen Lichteinheiten (RLE) gemessen wird. Die Ferritinmenge in der Probe ist dabei den vom optischen System des Gerätes gemessenen RLE direkt proportional. Die Ferritinkonzentration wird in ng/ml angegeben. Der Variationskoeffizient wird regelmäßig durch das Labor ermittelt und beträgt für Ferritin 5,7 %.

Der lösliche Transferrinrezeptor wurde mit Hilfe mikropartikelverstärkter Nephelometrie am BN II (Firma Dade Behring, Marburg, Deutschland) bestimmt. Hierbei werden Polystrolpartikel mit Antikörper markiert, die bei Vorhandensein des Analyten agglutinieren. An den Agglutinen wird eingestrahktes Licht gestreut, wobei die Intensität von der Konzentration vom Analytgehalt in der Probe abhängt. Die Auswertung erfolgt durch Vergleich mit einem Standard bekannter Konzentration. Die Transferrinrezeptorkonzentration wird in mg/l angegeben. Für die Reproduzierbarkeit wird ein Variationskoeffizient von 1,4-2,1 % angegeben.

Der TfR-F-Index wurde aus dem Verhältnis der sTfR-Konzentration zum dekadischen Logarithmus der Ferritinkonzentration errechnet [13].

$$\text{TfR-F-Index} = \frac{\text{Löslicher Transferrinrezeptor [mg/l]}}{\text{Log Serumferritin [ng/ml]}}$$

2.3.2 Analyse der zellulären Parameter und der Retikulozytenindizes

Die EDTA-Proben wurden mittels des Hämatologieanalyzers ADVIA® 120 (Bayer Vital GmbH, Fernwald, Deutschland) analysiert. Hierbei handelt es sich um ein vollautomatisches Hämatologie-System für das kleine und große Blutbild sowie für die Retikulozytenanalytik aus EDTA-Vollblut. Die Messtechnologie basiert auf einer Doppelwinkel-Laserstreulicht-Messung an isovolumetrisch gekugelten Erythrozyten oder an Zellkernen sowie auf der Messung eines Streulichtsignals zur Volumenbestimmung.

2.3.2.1 Analyse zellulärer Parameter

Für die Erythrozytenanalytik erfolgt eine Zellpräparation im isotonen Milieu. Die Erythrozyten werden mit Hilfe von Laurylsulfat isovolumetrisch aufgekugelt ("Isovolumetric Sphering"; Abbildung 2), mit Glutaraldehyd fixiert und hydrodynamisch fokussiert.

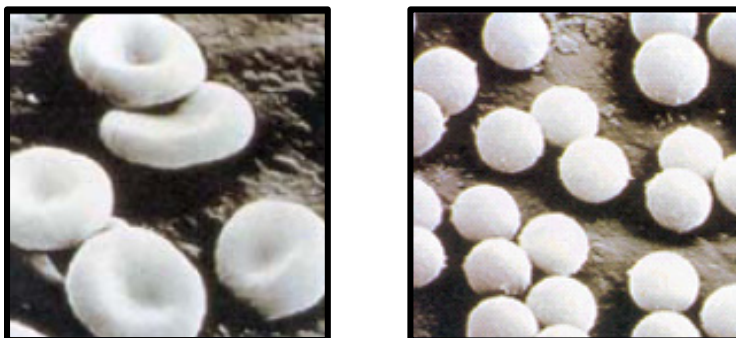


Abbildung 2: Links: Native Erythrozyten, unbehandelt; rechts: Patentierte Zellpräparation: isovolumetrische Aufkugelung („isovolumetric sphering“); Quelle: Bayer Vital GmbH – Diagnostics [89]

Mit einem Doppelwinkel-Laserstreulicht werden anschließend das Volumen und der intrazelluläre Hämoglobingehalt der Erythrozyten gemessen. Diese Kombination

ermöglicht eine quantitative Differenzierung der Erythrozytenpopulation. In einer normalen Patientenprobe werden während des Zählvorganges von genau 10 Sekunden etwa 50.000 Einzelerythrozyten gezählt und morphologisch beurteilt. Der Variationskoeffizient des Labors beträgt 0,4 %.

2.3.2.2 Retikulozytenanalytik

Die Retikulozyten werden aus EDTA-Vollblut bestimmt. Hierzu werden auch diese isovolumetrisch aufgekugelt. Anschließend wird die Rest-RNA der Retikulozyten mit Oxazin 750 angefärbt und mit Hilfe hydrodynamischer Fokussierung jeweils als singuläre Zellen gemessen und validiert. Als Messsignale werden das Vorwärtsstreuungslight in zwei unterschiedlichen Winkelbereichen (Niedrigwinkel 2–3° und Hochwinkel 5–15°) und die Absorption jeder Zelle von Detektoren aufgefangen und in ein Scattergramm (Retigramm) projiziert.

Durch diese Form der Analytik ist sowohl die Angabe der Retikulozytenkonzentration als auch die Trennung der nicht gefärbten Erythrozyten von den RNA-gefärbten Retikulozyten möglich. Des Weiteren können auch verschiedene Retikulozytenparameter, wie zum Beispiel der CHr, gemessen werden [7]. Dafür werden jeweils mindestens 20.000 Retikulozyten analysiert. Der CHr weist einen Variationskoeffizienten von 0,37 % auf.

Die Analyse der Blutproben im ADVIA® 120 ergab jeweils 102 verschiedene zelluläre Parameter und Indizes (siehe Tabelle A 2 im Anhang). In der vorliegenden Arbeit wurden neben der Erythrozytenzahl, dem Hämoglobin und Hämatokrit, der Anteil der hypochromen Erythrozyten sowie der Hämoglobingehalt der Retikulozyten näher untersucht. Im Rahmen der Suche nach alternativen Parametern für Diagnostik des Eisenstoffwechsels wurden alle 102 Parameter und Indizes hinsichtlich ihrer diagnostischen Wertigkeit geprüft (Kapitel 4.5).

2.3.3 Analyse des Pro-Hepcidins

Die Bestimmung von Pro-Hepcidin im Serum erfolgte mittels des immunologischen Nachweisverfahrens ELISA (DRG Instruments GmbH, Marburg, Deutschland). Das DRG Hepcidin Prohormon ELISA Kit ist ein Festphasen-Enzymimmunoassay und basiert auf einer enzymatischen Farbreaktion. Im ersten Schritt wird ein polyklonaler Antikörper an eine feste Phase (Well-Mikrotiterplatte) gebunden. Die Probe mit dem

nachzuweisenden Antigen wird dann in die Well-Mikrotiterplatten gegeben und eine Zeit lang inkubiert. Während dieser Zeit bindet der an die Platte gebundene Antikörper das in der Probe vorhandene Antigen. Im weiteren Verlauf laufen drei chemisch-physikalische Prozesse ab: 1. spezifische Interaktion von Antigen und Antikörper; 2. Adsorption von Antikörper oder Antigen an eine Festphase (Plastikoberfläche); 3. enzymatische Nachweisreaktion.

Die Kombination dieser drei Prozesse bildet den immunchemischen Nachweis „ELISA“, der heute eines der häufigsten Verfahren der medizinischen Diagnostik ist. Dazu trägt insbesondere die geringe Nachweisgrenze für Antigene bei, die häufig bei wenigen Picogramm ($1 \text{ pg} = 10^{-12} \text{ g}$) Antigen liegt. Zudem trägt zur häufigen Verbreitung des ELISA-Verfahrens auch seine gute Standardisierbarkeit und Reproduzierbarkeit bei [37].

2.4 Auswertung und Statistik

Als statistische Kennzahlen wurden der Median und das 25. und 75. Perzentil zur deskriptiven Darstellung der Daten herangezogen. Die Überprüfung von Unterschieden (Geschlecht) wurde mittels des Mann-Whitney-U-Testes durchgeführt, da keine Normalverteilung vorlag (Shapiro-Wilks-Test). Mögliche Veränderungen der Parameter im Verlauf der verschiedenen Untersuchungszeiträume wurden an Hand varianzanalytischer Methoden (Friedman ANOVA) bzw. dem Wilcoxon Test untersucht. Die Überprüfung der Unterschiede hinsichtlich der Subgruppen (unterschiedliche Sportart bzw. Intensität) wurde mittels multifaktorieller Varianzanalysen (MANOVA) mit Messwiederholung und post-hoc-Tests vorgenommen. Das Signifikanzniveau wurde bei $p < 0,05$ festgelegt und bei multiplen Testungen mittels Bonferroni-Korrektur angepasst. Hierbei wird die Irrtumswahrscheinlichkeit p durch die Anzahl der Testungen dividiert, um eine Kumulierung des Alphafehlers zu verhindern [14]. Für die Bestimmung von Referenzbereichen wurden die 2,5- und 97,5-Perzentile berechnet und der daraus resultierende 95%-Interperzentilbereich festgelegt.

Die Anwendung der oben genannten Verfahren sowie deren graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte rechnergestützt mittels des Statistikprogramms STATISTICA für Windows, Version 6.1D der Firma StatSoft, Inc., Tulsa, Oklahoma, USA.

Zur Überprüfung der diagnostischen Validität von CHr und % HYPO wurde die StatistikSoftware MedCalc® für Windows, Version 9.5.2.0 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgien) verwendet. Für die mögliche Abgrenzung gesunder Probanden von Probanden mit Eisenspeichermangel bzw. Probanden mit eisendefizitärer Erythropoese (IDE) sowie die Unterscheidung zwischen den Zuständen „Eisenspeichermangel“ und „IDE“ mittels des CHr und/oder des % HYPO wurde die Sensitivität und Spezifität für jeden Cut-off-Wert ermittelt und in einer Receiver Operating Characteristic (ROC) – Kurve dargestellt. Die Kurve veranschaulicht Sensitivität und Spezifität und erlaubt an Hand der Fläche unter der Kurve (AUC=Area under the curve) eine Beurteilung der Güte des Diagnoseverfahrens. Ein Test mit hoher Güte zeigt einen starken Anstieg der ROC-Kurve (schnelles Anwachsen der Sensitivität bei geringer Zunahme der Spezifität) bis zu einem Wendepunkt und danach einen nahezu horizontalen Verlauf. Für den Fall, dass ein Parameter nicht zwischen zwei Zuständen unterscheiden kann, resultierte ein diagonalen Kurvenverlauf („Random-ROC-Curve“). Die „Random-ROC-Curve“ weist eine AUC von 0,5 auf. Ein

Parameter, der zwischen zwei Zuständen unterscheiden kann, lieferte dagegen eine AUC von 1,0. Zum Vergleich der Güte verschiedener diagnostischer Verfahren kann die AUC als diagnostische Leistung quantifiziert werden. Der ermittelte AUC-Wert wird in Verbindung mit dem 95 % Konfidenzintervall (CI) beschrieben. Die Beurteilung der Testgüte erfolgt nach der Skala von Metz [87], sie ist in Tabelle A 3 im Anhang dargestellt.

Neben den modernen Eisenstoffwechselfparametern CHr und % HYPO wurden weitere 100 Blutparameter in Bezug auf ihre Güte hinsichtlich eines Diagnoseverfahrens für Eisenmangel oder IDE überprüft. Die einzelnen Parameter sowie deren Abkürzung und Einheit sind der Tabelle A 2 des Anhangs zu entnehmen.

2.4.1 Weiterführende Prüfung von Klassifikationsmodellen und Diagnoseverfahren

Um zu prüfen, ob alternativ die Kombination verschiedener Parameter für eine Differentialdiagnose herangezogen werden können, wurde eine Kreuzvalidierung mit der Statistiksoftware WEKA 3.6 (Weikato Environment for Knowledge Analysis, University of Waikato, Neuseeland) durchgeführt. Mit dieser Methode kann abgeschätzt werden, wie valide ein bestimmtes Diagnostikverfahren auf die etwaige Patientengruppe angewendet werden kann [55]. Hierfür wurden der CHr, % HYPO sowie weitere Blutparameter mit einer AUC > 0,8 der männlichen und weiblichen Sportler, differenziert nach „gesund“ und „Eisenmangel“, herangezogen. Die Entscheidungsparameter für die Differenzierung (Ferritin, sTfR sowie TfR-F-Index) wurden aus dem Parameterpool eliminiert. Die Datensätze wurden nach dem Zufallsprinzip ausbalanciert, um identische Datenmengen der jeweiligen Subpopulation zu betrachten. Als Klassifikationsverfahren wurden die Support Vector Machine (SVM) sowie Entscheidungsbäume (Decision Tree) gewählt. Eine SVM klassifiziert die Daten in zwei Klassen (z.B. „gesund“ und „krank“).

Entscheidungsbäume sind eine spezielle Darstellungsform von aufeinander folgenden, hierarchischen Entscheidungsregeln. Sie differenzieren die Parameter in mehrere Gruppen, welche durch eine Regel mit mindestens einer Bedingung definiert werden. Bei jedem Entscheidungsknoten wird der Parameter gesucht, mit dem man die Daten, in dem Fall die Probandengruppe, am besten klassifizieren kann [88].

3 Ergebnisse

Die Auswertung der 222 Ruheblutentnahmen an Hand der klassischen Eisenstoffwechselparameter Ferritin, sTfR sowie dem TfR-F-Index ergab eine Differenzierung aller Probanden hinsichtlich ihres Eisenstatus. Gemäß der Stadieneinteilung gemäß der Definition (siehe Tabelle 2) wiesen 59 % der untersuchten Ausdauersportler einen normalen Eisenstatus auf, 21 % hatten einen Speichereisenmangel, die übrigen 19 % eine eisendefizitäre Erythropoese. Tabelle 7 zeigt die Stadieneinteilung des Gesamtkollektives.

Tabelle 7: Stadieneinteilung gemäß Definition (siehe Tabelle 2)

	gesund	Speichereisenmangel	IDE
	[n]	[n]	[n]
Gesamt (n=222)	131	47	44
Männer (n=95)	81	8	6
Frauen (n=127)	50	39	38

Von den 95 männlichen Probanden hatten acht Sportler erniedrigtes Speichereisen. Sie hatten einen Ferritinwert < 20 ng/ml. Der sTfR, der TfR-F-Index und Hämoglobin lagen im Normbereich. Sechs weitere Sportler hatten neben geringen Ferritinwerten auch erhöhten sTfR-Werte (> 1,76 mg/l) oder einen erhöhten TfR-F-Index (> 1,25) und befanden sich zum Untersuchungszeitpunkt im Stadium II des Eisenmangels, der eisendefizitären Erythropoese. Die Mehrheit (85 %) der männlichen Probanden zeigte keine Auffälligkeiten bzgl. ihres Eisenhaushaltes. Die Blutuntersuchungen bei den weiblichen Ausdauersportlerinnen ergab eine erhöhte Prävalenz für einen Speichereisenmangel (31 %) sowie eine eisendefizitäre Erythropoese (30 %). 39 % der Frauen hatten einen unauffälligen Eisenhaushalt. Keiner der untersuchten Ausdauersportler hatte Anzeichen einer Eisenmangelanämie.

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse, gegliedert nach den einzelnen Studienabschnitten, dargestellt. Für die Auswertung der Daten wurden statistische Verfahren, die keine Normalverteilung voraussetzen, herangezogen. Die Ergebnisse werden jeweils mit dem Median und dem 25. sowie 75. Perzentil dargestellt.

3.1 Klassische und moderne Eisenstoffwechselparameter gesunder Ausdauersportler und -sportlerinnen

Im ersten Teil der Studie wurden die individuellen hämatologischen (Erythrozytenkonzentration, Hämoglobin, Hämatokrit, Hämoglobingehalt der Retikulozyten, % Anteil hypochromer Erythrozyten) und die klassischen Eisenstoffwechselparameter (Ferritin, löslicher Transferrinrezeptor, TfR-F-Index) des gesamten Probandenkollektives (n=222) in Ruhe bestimmt.

Tabelle 8: Ruhewerte gesunder Ausdauersportler (n=131) für Männer und Frauen, Referenzbereiche des Labors 28 [7195], *signifikante geschlechtsabhängige Unterschiede (Mann-Whitney U-Test)

	Referenz- bereich Labor 28	Median	25. Perzentil	75. Perzentil	p- Niveau*
Erythrozytenanzahl [T/l]					
Männer	4,3 - 6,3	4,83	4,65	5,06	< 0,05
Frauen	4,0 - 5,4	4,40	4,11	4,62	
Hämoglobin [g/dl]					
Männer	14,0 - 17,0	14,6	14,1	15,3	< 0,05
Frauen	12,0 - 15,0	13,4	12,5	13,9	
Hämatokrit [%]					
Männer	39 - 50	41,8	40,5	43,7	< 0,05
Frauen	35 - 45	38,3	36,0	39,9	
Ferritin [ng/ml]					
Männer	22 - 275	48,0	39,0	70,0	< 0,05
Frauen	4,3 - 204	29,5	24,0	42,0	
Lösl. Transferrinrezeptor [mg/l]					
Männer	0,83-1,76	1,13	0,97	1,27	n.s.
Frauen		1,04	0,95	1,24	
TfR-F-Index [TfR/log Ferritin]					
Männer	0,41-1,25	0,66	0,56	0,80	< 0,05
Frauen		0,71	0,60	0,89	
CHr [pg]					
Männer	28-35	32,8	31,8	34,0	< 0,05
Frauen		32,1	31,0	33,1	
Hypochrome Erythrozyten [%]					
Männer	< 2,5	0,1	0	0,1	n.s.
Frauen		0,1	0,1	0,2	

Entsprechend der Stadieneinteilung (Tabelle 2, S.17) wurden 131 Probanden als „gesund“ eingestuft (Ferritin > 20 ng/ml, sTfR < 1,76 mg/l, TfR-F-Index: $\leq 1,25$, Hb > 12 bzw. 13 g/dl; siehe Tabelle 7, S. 35). In Tabelle 8 sind der Median, das 25. und 75. Perzentil sowie geschlechtsspezifische Unterschiede der o.g. Parameter dargestellt. Zum Vergleich werden die Referenzbereiche des Labors 28 angegeben. Sie beschreiben den Bereich, in dem die meisten (aber nicht alle) Werte gesunder Personen liegen oder liegen sollten [71].

Sämtliche Parameter lagen innerhalb der vom Hersteller bzw. Labor vorgegebenen Referenzbereiche. Die Erythrozytenkonzentration, der Hämoglobin- und der Hämatokritwert lagen sowohl bei den männlichen als auch bei den weiblichen Ausdauerathleten im unteren Normbereich, ihre mittleren Werte unterschieden sich signifikant voneinander ($p < 0,05$). Der Ferritin-Wert befand sich per definitionem über 20 ng/ml (Tabelle 2 und Tabelle 7). Frauen hatten einen signifikant geringeren Wert (29,5 [24,0/42,0] ng/ml) gegenüber den Männern (48,0 [39,0/70,0] ng/ml). Der vom Labor vorgegebene Referenzbereich lag für Männer bei 22 – 275 ng/ml, für Frauen bei 4,3 – 204 ng/ml. Auch der lösliche Transferrinrezeptor und der berechnete TfR-F-Index befanden sich nach Definitionsvorgabe innerhalb der jeweiligen Referenzbereiche. Für den sTfR konnte zwischen den Geschlechtern kein Unterschied festgestellt werden, für den TfR-F-Index nur ein sehr geringer. Die mittleren Werte des CHr befanden sich mit 32,8 [31,8/34,0] pg bei den Männern und 32,2 [31,1/33,2] pg bei den Frauen eher im oberen Teil des Referenzbereiches. Auch hier kann ein geringer Unterschied zwischen den Geschlechtern konstatiert werden ($p < 0,05$). Für den Anteil der hypochromen Erythrozyten konnte dagegen keine Geschlechtsunterschiede festgestellt werden. Die Werte lagen deutlich im unteren Normbereich 0,1 [0,1/0,2] %.

3.1.1 Bestimmung der Referenzbereiche für CHr und % HYPO für Ausdauersportlern

Die Bestimmung der Referenzbereiche für die Subpopulation der Ausdauersportler erfolgte an dem als „gesund“ definierten Teil der untersuchten Probanden. Mit der Berechnung der 2,5- und 97,5-Perzentile und des daraus resultierenden 95 %-Interperzentilbereichs ergaben sich folgende Referenzbereiche für den CHr bzw. den % HYPO:

CHr:	28,8 - 35,9 pg	% HYPO:	0 – 0,5 %
-------------	----------------	----------------	-----------

Innerhalb dieser Referenzbereiche lagen 95 % aller Messwerte.

3.2 Einfluss verschiedener sportlicher Belastungen auf moderne Eisenstoffwechselparameter

3.2.1 Sportartspezifische Belastungsvorgaben

Mit einem sportartspezifischen Stufentest wurde die aktuelle individuelle Leistungsfähigkeit, gekennzeichnet durch die individuelle anaerobe Schwelle (IAS), von jeweils zehn Schwimmern, Radfahrern und Läufern ermittelt. Tabelle 9 zeigt die davon abgeleiteten mittleren Belastungsvorgaben für Schwimmer (in m/s), Radfahrer (in Watt) und Läufer (in m/s), jeweils für eine regenerative (REG: 50-70% der IAS), extensive (EXT: 80% der IAS) und intensive (INT: 110% der IAS) Belastungseinheit.

Tabelle 9: Mittlere sportartspezifische Belastungsvorgaben (Median, 25./75. Perzentil); REG=regenerativ, EXT=extensiv, INT=intensiv

Belastungs- vorgaben	REG	EXT	INT
	Median [25./75. Perzentil]	Median [25./75. Perzentil]	Median [25./75. Perzentil]
Schwimmer [m/s]	1,05 [1,05/1,11]	1,29 [1,25/1,30]	1,39 [1,42/1,36]
Radfahrer [Watt]	204 [189/216]	272 [252/288]	374 [347/396]
Läufer [m/s]	2,4 [2,2/2,6]	3,2 [2,9/3,4]	4,4 [4,0/4,7]

3.2.2 Veränderungen des CHr, % HYPO und Pro-Hepcidin in Folge regenerativer, extensiver und intensiver Belastungen

Der Hämoglobingehalt der Retikulozyten (CHr) zeigte keine Veränderungen auf Grund von regenerativen, extensiven oder intensiven Ausdauerbelastungen ($p > 0,0127$; Anpassung des Signifikanzniveaus auf Grund vierfacher Messwiederholung (Bonferroni-Korrektur); Abbildung 3). Geringfügige Änderungen in Folge der regenerativen Belastungseinheit bei den Läufern von bis zu einem 1 pg waren statistisch nicht signifikant. Darüber hinaus gab es keinen Einfluss der verschiedenen Ausdauersportarten (Rad, Lauf, Schwimmen) auf den CHr ($p > 0,0127$). Die Ruhewerte der Läufer waren niedriger (33,4 [32,5/34,8] pg) als die der Schwimmer (34,6 [33,1/35,2] pg) und Radfahrer (34,7 [34,0/35,1] pg), die Abweichungen waren jedoch nicht signifikant.

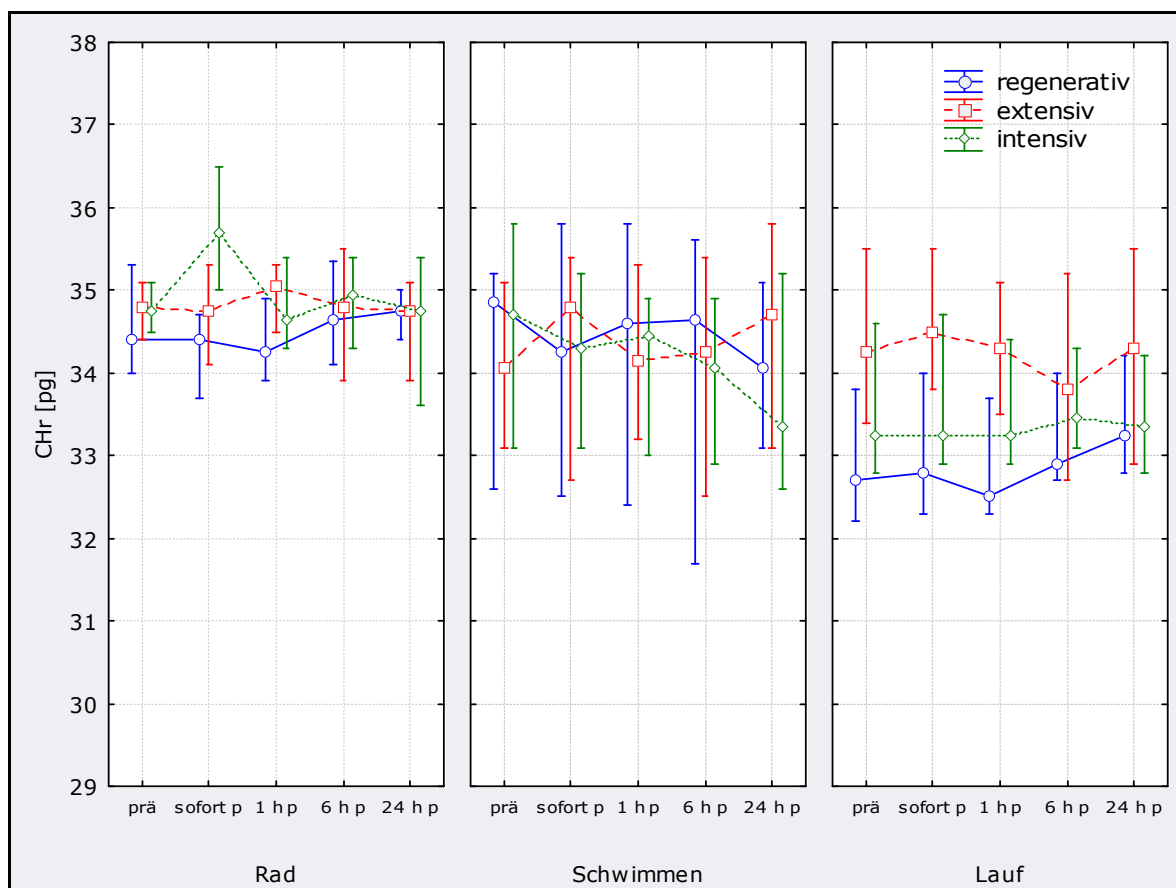


Abbildung 3: Einfluss von regenerativen, extensiven und intensiven Belastungen bei Läufern, Radfahrern und Schwimmern auf den Hämoglobingehalt der Retikulozyten; MANOVA mit Messwiederholung (Median, 25./75. Perzentil)

Der prozentuale Anteil der hypochromen Erythrozyten zeigte keine signifikanten belastungsinduzierten Veränderungen ($p > 0,0127$). In Abhängigkeit von der Sportart lassen sich Unterschiede erkennen ($p > 0,009$). Die Ausgangswerte der Läufer waren niedriger (0,08 [0,0/0,17] %), die der Schwimmer höher (0,18 [0,05/0,3] %) als die der Radfahrer (0,13 [0,01/0,25] %; Abbildung 4).

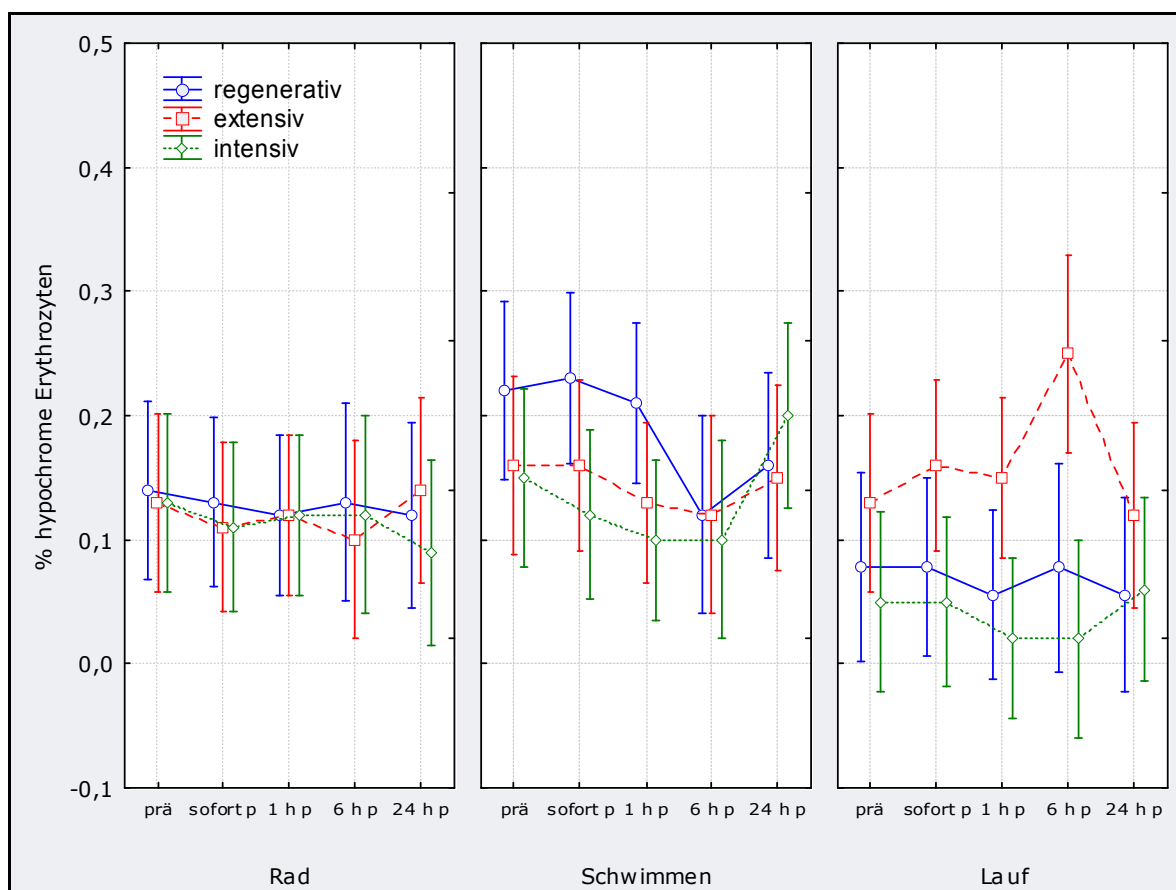


Abbildung 4: Einfluss von regenerativen, extensiven und intensiven Belastungen bei Läufern, Radfahrern und Schwimmern auf den prozentualen Anteil der hypochromen Erythrozyten; MANOVA mit Messwiederholung (Median, 25./75. Perzentil)

Läufer weisen gegenüber Schwimmern und Radsportlern signifikant höhere Pro-Hepcidin-Konzentrationen in Ruhe auf (114,3 [109,3/129,1] vs. 79,2 [71,7/89,1] vs. 89,4 [79,1/101,8] ng/ml; $p < 0,001$; Abbildung 5). Im zeitlichen Verlauf nach der jeweiligen Belastung zeigte der Parameter keine Veränderungen gegenüber den Ruhewerten ($p > 0,0127$). Zwischen den verschiedenen Belastungsintensitäten bzw. Sportarten wurden ebenfalls keine Unterschiede gefunden ($p > 0,0127$).

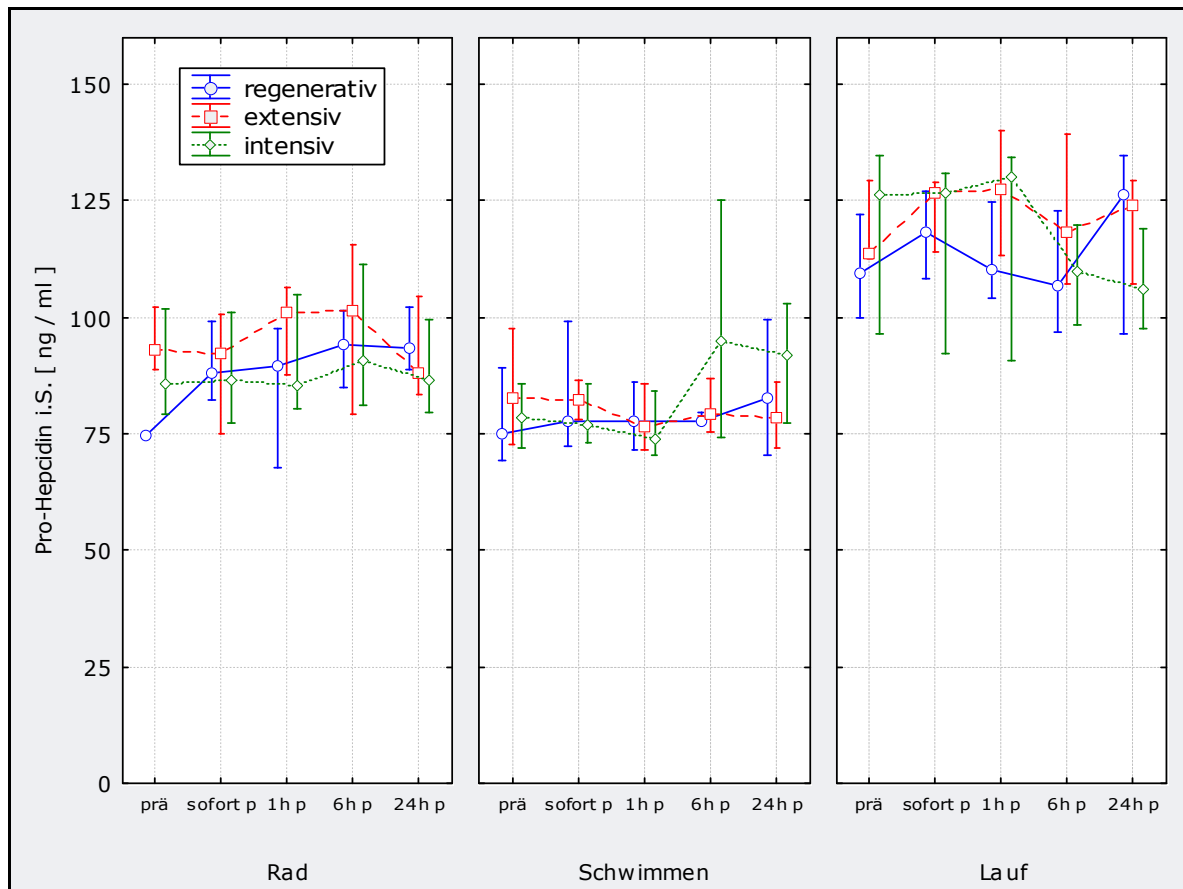


Abbildung 5: Einfluss von regenerativen, extensiven und intensiven Belastungen bei Läufem, Radfahrern und Schwimmern auf Pro-Hepcidin; MANOVA mit Messwiederholung (Median, 25./75. Perzentil)

3.3 Einfluss eines Marathonlaufes

Im Folgenden werden die Veränderungen der hämatologischen Parameter und Retikulozytenindizes nach einem Marathon von 75 Läufern dargestellt und beschrieben (Tabelle 10).

Tabelle 10: Veränderung hämatologischer Parameter nach einem Marathonlauf (Median, 25./75. Perzentil, Signifikanzniveau); n=75 (Männer n=40, Frauen n=35)

Parameter	prä	post	p-Niveau*
Erythrozyten [T/l]			
Männer	5,09 [4,86/5,22]	5,15 [4,97/5,30]	n.s.
Frauen	4,35 [4,23/4,55]	4,41 [4,15/4,73]	n.s.
Hämoglobin [g/dl]			
Männer	15,0 [14,7/15,8]	15,5 [14,8/15,8]	n.s.
Frauen	13,2 [12,7/13,5]	13,2 [12,5/14,0]	n.s.
Hämatokrit [%]			
Männer	44,8 [43,2/45,9]	44,3 [42,9/45,9]	n.s.
Frauen	38,9 [37,8/40,2]	38,4 [37,0/42,0]	n.s.
CHr [pg]			
Männer	33,2 [31,8/33,9]	33,3 [32,2/33,8]	n.s.
Frauen	32,9 [31,9/33,9]	32,7 [32,1/34,0]	n.s.
HYPO [%]			
Männer	0,30 [0,20/0,45]	0,15 [0,10/0,45]	n.s.
Frauen	0,20 [0,10/0,40]	0,20 [0,10/0,50]	n.s.

Die hämatologischen Parameter Erythrozyten- und Hämoglobinkonzentration zeigten sowohl bei den Männern als auch bei den Frauen einen geringen Anstieg. Der Hämatokritwert fiel bei beiden Geschlechtern nach dem Marathon unwesentlich ab. Die beschriebenen Veränderungen waren statistisch nicht signifikant. Der CHr blieb bei den männlichen Läufern (prä 33,2 pg; post 33,3 pg, p: n.s.) und bei den weiblichen Läuferinnen (prä 32,9 pg; post 32,7 pg, p: n.s.) unverändert. Der % HYPO blieb nach der Belastung stabil, ein kleiner Abfall bei den Männern war nicht signifikant.

Unter dem beschriebenen Probandenkollektiv befanden sich 18 Probandinnen, die an weiteren Blutabnahmen, jeweils einen, drei und acht Tage nach dem Marathon (d1, d3, d8) teilnahmen. Die Veränderungen der Blutbildparameter und Eisenstoffwechselparameter sind in Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11: Veränderung von hämatologischen Parametern und Eisenstoffwechselparametern nach einem Marathonlauf bei Frauen (Median, 25./75. Perzentil, Signifikanzniveau); n=18

Parameter	prä	post	d1	d3	d8	p-Niveau*
Erythrozyten [T/l]	4,35 [4,25/4,47]	4,32 [4,22/4,50]	4,34 [3,98/4,42]	4,23 [4,03/4,38]	4,39 [4,21/4,57]	n.s.
Hämoglobin [g/dl]	13,1 [12,7/13,5]	13,0 [12,5/13,8]	12,8 [12,0/13,4]	12,9 [12,1/13,0]	13,0 [12,4/13,4]	n.s.
Hämatokrit [%]	38,5 [37,5/39,8]	38,2 [36,8/40,1]	37,5 [36,7/39,5]	38,0 [36,3/39,1]	38,7 [38,3/39,2]	n.s.
CHr [pg]	32,4 [31,1/32,9]	32,4 [31,6/33,2]	32,4 [31,4/32,8]	32,2 [30,7/32,7]	32,0 [30,2/32,5]	n.s.
HYPO [%]	0,1 [0,1/0,2]	0,1 [0,1/0,4]	0,15 [0,1/0,2]	0,15 [0,1/0,2]	0,2 [0,1/0,3]	n.s.
Ferritin [ng/ml]	17,5 [13,0/24,0]	30,5 [15,0/42,0]	33,0 [18,0/46,0]	24,5 [18,0/32,0]	16,5 [13,0/23,0]	<0,012
sTfR [mg/l]	1,33 [1,16/1,68]	1,42 [1,13/1,71]	1,27 [1,08/1,60]	1,28 [1,05/1,65]	1,28 [1,15/1,53]	<0,012
TfR-F-Index [TfR/log Ferritin]	1,01 [0,79/1,51]	0,96 [0,70/1,41]	0,88 [0,66/1,18]	0,94 [0,69/1,23]	1,00 [0,79/1,48]	<0,012

* Signifikante Unterschiede im zeitlichen Verlauf (Friedman-ANOVA), Anpassung des Signifikanzniveaus nach Bonferoni-Korrektur

Bei den Probandinnen war ein Abfall der Erythrozytenkonzentration, des Hämoglobingehaltes und des Hämatokrits zu verzeichnen. Die Erythrozytenkonzentration stieg ab dem Untersuchungszeitpunkt d1, der Hämoglobingehalt und der

Hämatokrit ab d3 wieder an. Am achten Tag nach der Marathonbelastung wurden wieder Ausgangswerte erreicht. Alle Veränderungen waren nur geringfügig bzw. im Verlauf nicht signifikant.

Der prozentuale Anteil hypochromer Erythrozyten blieb stabil. Geringfügige Anstiege zu den Untersuchungstagen d1 und d3 waren statistisch nicht signifikant. Der Hämoglobingehalt der Retikulozyten zeigt eine minimale Verringerung zum Untersuchungszeitpunkt d3. Auch diese Veränderung war nicht signifikant.

Das Akute-Phase-Protein Ferritin war nach dem Lauf deutlich erhöht (prä: 17,5 ng/ml; post: 30,5 ng/ml; $p < 0,001$) und stieg bis d1 weiter an. Drei Tage nach der Ausdauerbelastung war Ferritin immer noch erhöht (d3: 24,4 ng/ml), erst am letzten Untersuchungstag (d8) wurden wieder Ausgangswerte erreicht. Der lösliche Transferrin-Rezeptor zeigte direkt nach dem Lauf höhere Werte (prä: 1,33 mg/l; post: 1,42 mg/l; $p < 0,05$). Im zeitlichen Verlauf blieb der Parameter stabil. Der TfR-F-Index verhielt sich invers ($p < 0,05$) zu Ferritin. Die Veränderungen waren jedoch im Vergleich zu Ferritin abgeschwächt. Nach einem Abfall der Werte bis d3 wurden zum Zeitpunkt d8 wieder Ausgangswerte erreicht.

3.4 Verhalten moderner Eisenstoffwechselfparameter unter Substitution

In Tabelle 12 sind die Ergebnisse des Substitutionsmonitoring mit jeweils der ersten Blutentnahme (BE prä) und der letzten nach 7 Wochen (BE 7 Wo) aufgeführt. Mögliche Parameterveränderungen im Verlauf des Untersuchungszeitraumes wurden mit Hilfe varianzanalytischer Methoden untersucht.

Tabelle 12: Veränderung von Eisenstoffwechselfparametern unter Substitution – Darstellung der prä- und post-Werte (Median, 25./75. Perzentil, Signifikanzniveau), n=10

	BE prä Median [25. / 75. Perzentil]	BE nach 7 Wo Median [25. / 75. Perzentil]	p-Niveau*
Ery [T/l]	4,43 [4,36/4,69]	4,40 [4,28/4,74]	n.s.
Hb [g/dl]	12,8 [12,5/14,9]	13,85 [12,7/14,5]	n.s.
Hkt [%]	37,7 [36,5/42,3]	40,3 [36,7/42,2]	n.s.
Ferritin [ng/ml]	8,0 [5,0/14,0]	22,0 [16,0/37,0]	<0,05
sTfR [mg/l]	1,34 [1,19/1,79]	1,37 [1,12/1,50]	n.s.
TfR-F-Index [TfR/log Ferritin]	1,53 [1,11/2,56]	1,01 [0,79/1,20]	<0,05
CHr [pg]	31,8 [29,9/32,7]	34,1 [32,8/34,9]	<0,05
Anteil hypochromer Erythrozyten [%]	0,20 [0,10/0,70]	0,15 [0,00/0,40]	n.s.
Anteil hypochromer Retikulozyten [%]	1,05 [0,60/3,90]	0,20 [0,10/0,35]	<0,05

* Signifikante Unterschiede im prä/post-Vergleich gepaarter Stichproben (Wilcoxon)

Die hämatologischen Parameter Erythrozytenkonzentration, Hämoglobinkonzentration und Hämatokrit zeigten nach zwei Wochen oraler Eisensubstitution einen Anstieg. Die Werte fielen im Anschluss wieder ab und pegelten sich auf dem Niveau des Ausgangswertes (Erythrozyten) bzw. auf ein leicht höheres Niveau (Hämoglobin, Hämatokrit) ein. Die beschriebenen Veränderungen waren statistisch nicht signifikant. Eine detaillierte Übersicht hinsichtlich der Veränderung der Parameter an den einzelnen Untersuchungstagen sind der Tabelle A 1 des Anhangs zu entnehmen.

Das Eisenspeicherprotein Ferritin stieg in Folge der Substitution kontinuierlich von 8,0 [5,0/14,0] auf 22,0 [16,0/37,0] ng/ml an (Abbildung 6). Innerhalb der ersten Woche sowie zwischen der fünften und sechsten Woche war der Anstieg besonders deutlich. Der lösliche Transferrinrezeptor zeigte dagegen keine Veränderungen.

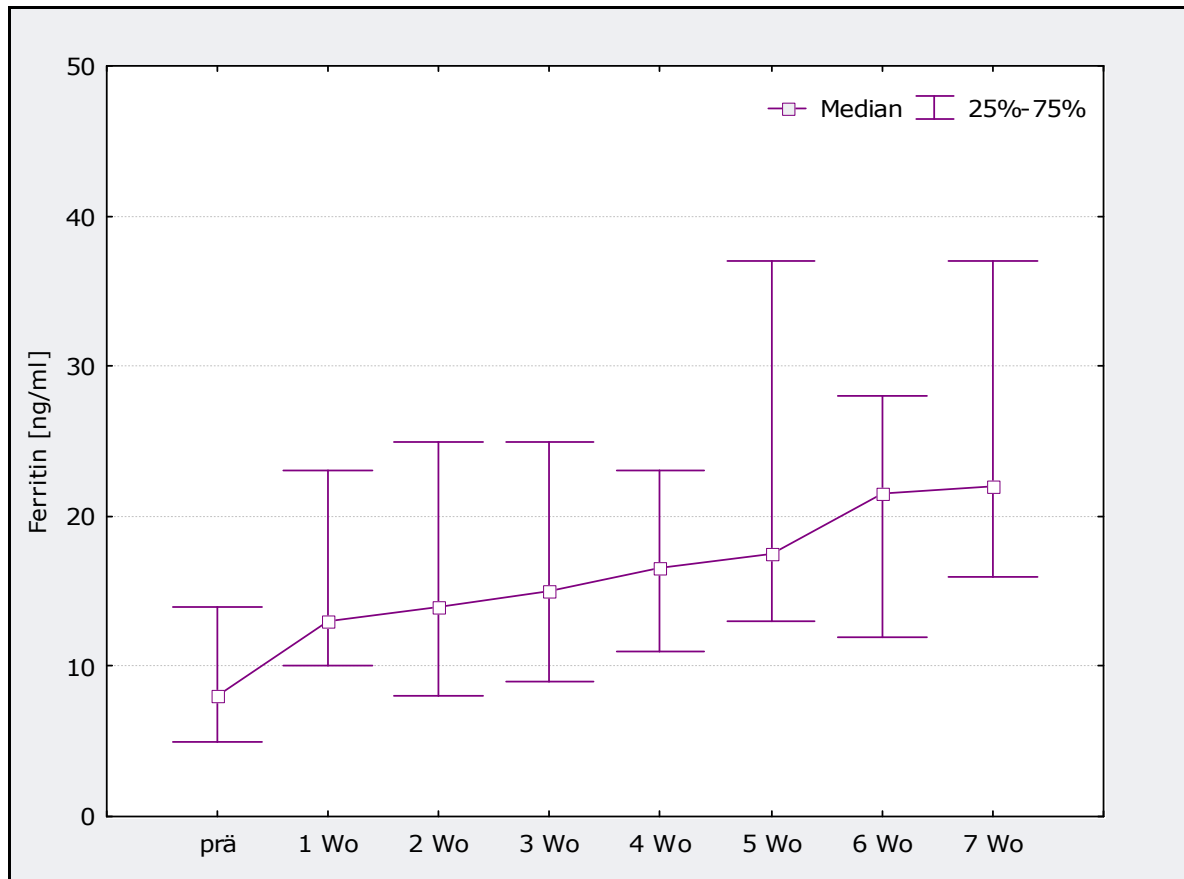


Abbildung 6: Ferritin unter Eisensubstitution im prä/post-Vergleich; $p < 0,05$ (Wilcoxon-Test)

Der TfR-F-Index verhielt sich invers zu Ferritin und verringerte sich, als Quotient aus sTfR und log Ferritin, von 1,53 [1,11/2,56] auf 1,01 [0,79/1,20] (Abbildung 7).

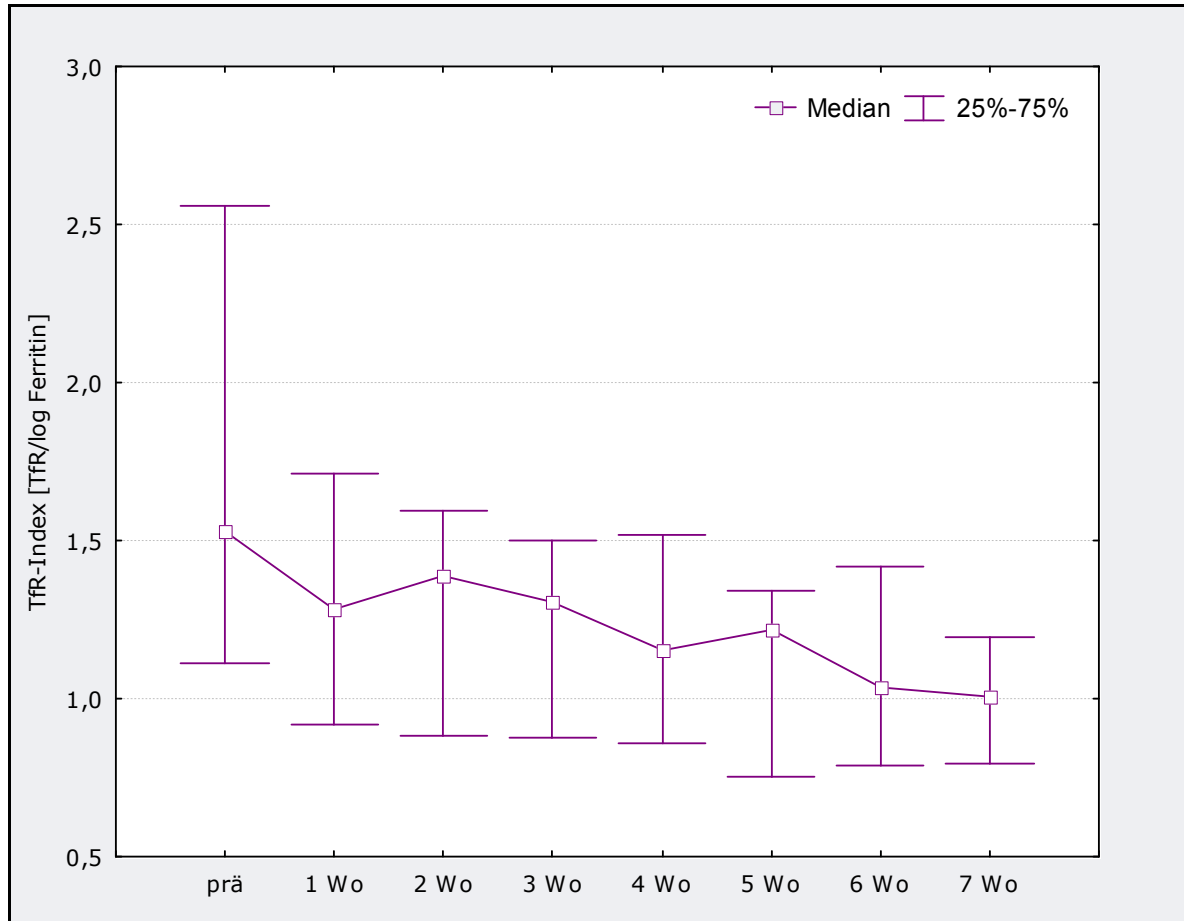


Abbildung 7: TfR-F-Index unter Eisensubstitution im prä/post-Vergleich; $p < 0,05$ (Wilcoxon-Test)

Die Werte des CHr befanden sich während des gesamten Untersuchungszeitraumes im Normbereich. Der prä/post-Vergleich zeigte einen signifikanten Anstieg (prä 31,8 [29,9/32,7] pg; post 34,1 [32,8/34,9] pg). Innerhalb der ersten Woche sowie zwischen der fünften und sechsten Woche war der Anstieg besonders deutlich.

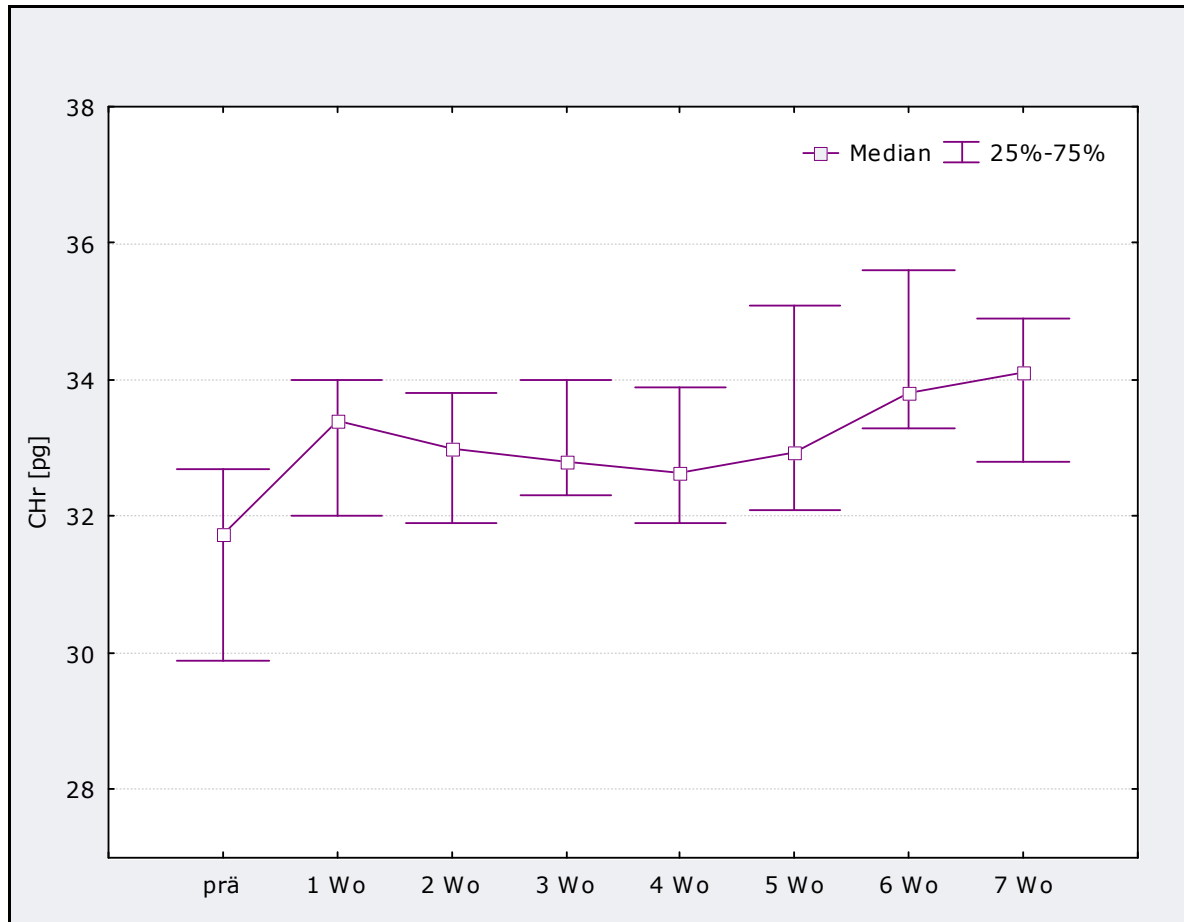


Abbildung 8: CHr unter Eisensubstitution im prä/post-Vergleich; $p < 0,05$ (Wilcoxon-Test)

Der Anteil der hypochromen Erythrozyten fiel leicht (n.s.), der Anteil der hypochromen Retikulozyten deutlich ab (prä 1,05 [0,60/3,90] %, BE 8 0,20 [0,1/0,3]; $p < 0,0073$).

3.5 Diagnostische Validität von CHr und % HYPO

3.5.1 ROC-Analyse

Zur Überprüfung der diagnostischen Validität der neuen Parameter CHr und % HYPO bei Ausdauersportlern wurden die Sensitivität (Anteil der korrekt klassifizierten Kranken) und die Spezifität (Anteil der korrekt klassifizierten Gesunden) für jeweils verschiedene Cut-off-Werte untersucht (MedCalc, ROC curve analysis). Für die Abgrenzung gesunder Probanden von Probanden mit Eisenspeichermangel bzw. Probanden mit eisendefizitärer Erythropoese (IDE) sowie die Unterscheidung zwischen den Zuständen „Eisenspeichermangel“ und „IDE“ wurde der Cut-off mit der jeweils höchsten Sensitivität und Spezifität ermittelt. Als „krank“ werden an dieser Stelle Probanden mit einem Eisenspeichermangel bzw. einer eisendefizitärer Erythropoese bezeichnet. Die Ergebnisse und die entsprechende diagnostische Güte (AUC= Area under curve) sind in Tabelle 13 dargestellt.

Für die Unterscheidung des Zustandes „gesund“ vs. „krank“ hat der CHr einen Cut-off-Wert von $\leq 31,4$ pg mit der höchsten Sensitivität (40,9 %) und Spezifität (78,9 %). Die Güte des Testparameters CHr wird mit einer AUC=0,618 (95 % Konfidenzintervall CI: 0,550 - 0,683) als nicht ausreichend bewertet.

Mit einem prozentualen Anteil der hypochromen Erythrozyten von $> 0,2$ % wurden 44,3 % der Kranken als „krank“ und 93,0 % der Gesunden als „gesund“ klassifiziert. Die AUC wird mit 0,705 (95 % CI: 0,640 - 0,765) als mittelmäßig eingestuft.

Für die Unterscheidung der Zustände „gesund“ vs. „Speichereisenmangel“ sind die neuen Parameter nur sehr wenig geeignet (% HYPO: AUC=0,540; 95 % CI: 0,463 to 0,616; CHr: AUC=0,636; 95 % CI 0,450 to 0,604).

Tabelle 13: ROC-Kurven-Analyse für CHr und % HYPO Beurteilung der AUC nach Metz CE [87]:
 * fail, **poor, ***fair, ****good

	CHr	% HYPO
gesund vs. krank		
Cut-off	$\leq 31,4$ pg	$> 0,2\%$
Sensitivität [%]	40,9	44,3
Spezifität [%]	78,9	93,0
AUC	0,618**	0,705***
gesund vs. Speichereisenmangel		
Cut-off	$\leq 34,5$ pg	$> 0,2\%$
Sensitivität [%]	95,6	17,8
Spezifität [%]	15,6	93,0
AUC	0,528*	0,540*
gesund vs. IDE		
Cut-off	$\leq 31,4$ pg	$> 0,2\%$
Sensitivität [%]	55,8	72,1
Spezifität [%]	78,9	93,0
AUC	0,713***	0,878****
Speichereisenmangel vs. IDE		
Cut-off	$\leq 32,6$ pg	$> 0,2\%$
Sensitivität [%]	79,1	72,1
Spezifität [%]	51,1	82,2
AUC	0,698**	0,838****

Werden für verschiedene Cut-offs die korrespondierenden Werte für Spezifität und Sensitivität berechnet und gegeneinander aufgetragen, entsteht die so genannte ROC-Kurve (ROC: receiver operating characteristic). Diese wird im Folgenden exemplarisch für beide Testparameter hinsichtlich der Diagnose einer eisendefizitären Erythropoese dargestellt, da sie hier jeweils die höchste Güte erreichten.

In Abbildung 9 ist die ROC-Kurve für den CHr in Bezug auf eine IDE dargestellt. Zunächst verläuft die Kurve steil. Hier ist der Cut-off für die Entscheidung „krank“, in diesem Fall also das Vorhandensein einer eisendefizitären Erythropoese, sehr niedrig. Die Spezifität, also die Wahrscheinlichkeit, einen Gesunden als „gesund“ zu diagnostizieren, ist groß, die Sensitivität dagegen sehr gering. Mit steigenden Cut-off-Werten nimmt die Sensitivität zu Lasten der Spezifität zu. Die so genannte Falsch-

Positiv-Rate (Anteil der Gesunden, die fälschlicher Weise als krank eingestuft wurden) nimmt zu. Die höchste Testgenauigkeit wurde bei einem Cut-off von 31,4 pg erreicht. Diesem Wert wird die höchste Sensitivität (55,8 %) und Spezifität (78,9 %) zugeordnet. Die Güte des Diagnoseparameters CHr wird mit einer AUC=0,713 (95% CI: 0,639 to 0,780) als mittelmäßig bewertet.

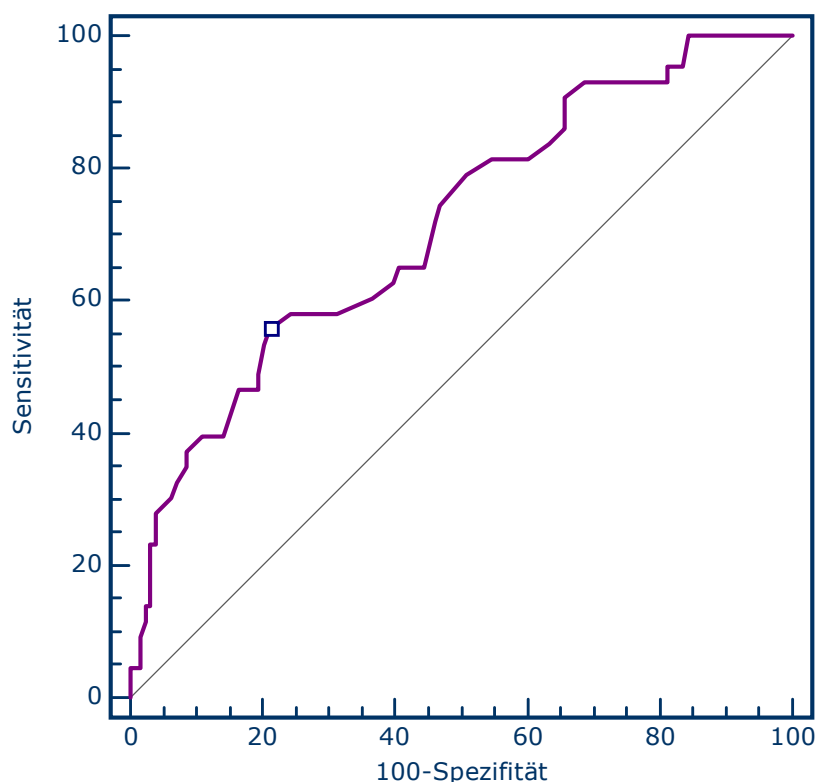


Abbildung 9: ROC für den CHr in Bezug auf IDE, AUC=0,713, □ Cut-off 31,4 pg (höchste Testgenauigkeit)

In Abbildung 10 ist die ROC-Kurve für den % HYPO in Bezug auf eine IDE dargestellt. Der Kurvenverlauf nähert sich einer idealen ROC-Kurve an. Die AUC ist dementsprechend groß (0,878; 95 % CI: 0,820 to 0,923), die Güte des Test kann als „gut“ eingeschätzt werden. Links unten beginnt die Kurve mit einem sehr steilen Anstieg, d.h., der Test gewinnt mit einem steigenden Cut-off an Sensitivität, ohne an Spezifität zu verlieren. Erst bei einer Sensitivität von ca. 70 % sinkt die Spezifität und die Kurve weicht nach rechts ab, bevor sie eine Sensitivität von 100 % erreicht. Hier beträgt die Spezifität allerdings nur noch 28 %. Die höchste Testgenauigkeit für den % HYPO wird bei 0,2 % erreicht.

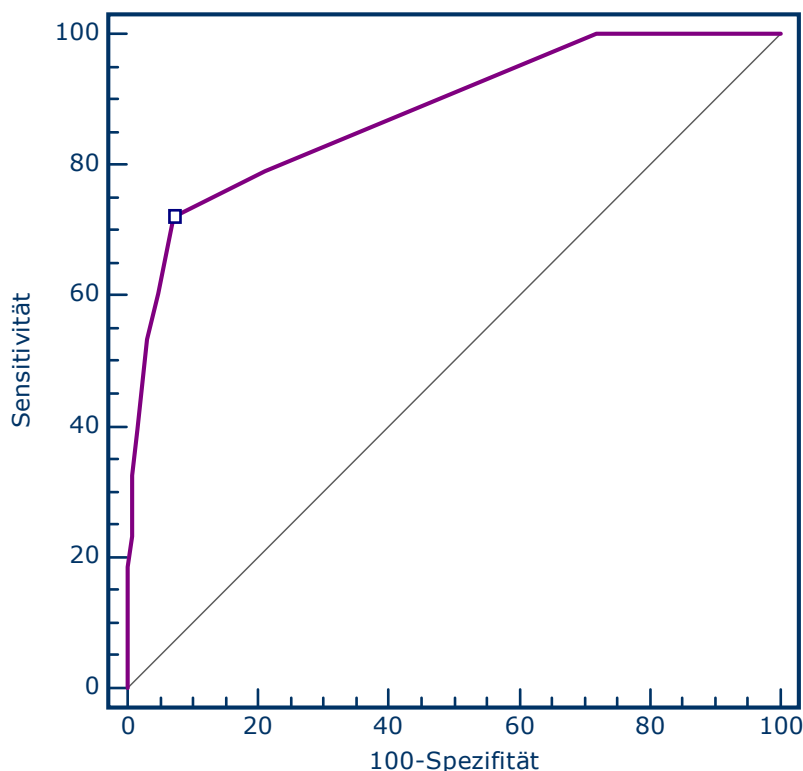


Abbildung 10: ROC für den % HYPO in Bezug auf IDE, $AUC=0,839$; □ Cut-off 0,2 % (höchste Testgenauigkeit)

Um mit Hilfe des CHr Athleten mit Speichereisenmangel von Athleten mit eisendefizitärer Erythropoese zu unterscheiden, wurde ein Cut-off von 32,6 pg ermittelt. Bei diesem Referenzwert werden 79,1 % der Athleten mit Speichereisenmangel auch als solche diagnostiziert. 51,1 % der Athleten mit IDE werden entsprechend klassifiziert. Die Güte des Diagnoseparameters CHr wird mit einer $AUC=0,698$ (95% CI: 0,591 to 0,791) ebenfalls als nicht ausreichend bewertet. Zu einem deutlich besseren Ergebnis führt die Verwendung des % HYPO ($AUC=0,838$; 95 % CI: 0,744 to 0,908). Mit einem prozentualen Anteil an hypochromen Erythrozyten von $> 0,2$ % wurden 72,1 % der Probanden mit IDE als solche erkannt. Bei 82,2 % der Probanden konnte der Zustand „Speichereisenmangel“ korrekt festgestellt werden. Am deutlichsten konnte der Zustand „gesund“ von „IDE“ mit den untersuchten Parametern unterschieden werden.

Mit dem Hämatologieanalyzer ADVIA® 120 konnten weitere, noch nicht in der Praxis verwendete, Parameter analysiert werden. Untern ihnen befanden sich Blutbildparameter mit hoher Testgüte ($AUC>0,8$) für die Unterscheidung „gesund“ vs. „IDE“. Diese sind in Tabelle 14 dargestellt. Die höchste Testgüte erreichte die Anzahl

hypochromer normozytärer Retikulozyten mit einer AUC von 0,888 (95% CI: 0,830 to 0,931).

Tabelle 14: ROC-Ergebnisse von Blutbildparametern für IDE mit einer AUC>0,8; 95 % Konfidenzintervall

	AUC	95 % Konfidenzintervall
Anzahl hypochrome Erythrozyten	0,880	0,821 - 0,925
Anzahl hypochrome normozytäre Erythrozyten	0,875	0,816 - 0,921
Anzahl hypochrome Retikulozyten	0,877	0,805 - 0,930
% hypochrome Retikulozyten	0,878	0,818 - 0,924
Anzahl hypochrome normozytäre Retikulozyten	0,886	0,828 - 0,930
% hypochrome normozytäre Retikulozyten	0,888	0,830 - 0,931

3.5.2 Klassifikationsmodelle

Mit dem Statistikprogramm WEKA können verschiedenen Klassifikationsalgorithmen auf die Datensätze (Blutparameter der Probanden) angewendet werden. Ziel ist es, die Probanden mit Hilfe einem oder mehrerer Parameter bestmöglich voneinander abzugrenzen (z.B. „gesund“ von „IDE“). Während mit der ROC-Analyse jeder potentielle diagnostische Parameter einzeln betrachtet wurde, versucht man mit verschiedenen Klassifikationsmodellen die Kombination unterschiedlicher Parameter zu nutzen, um die Datenmenge adäquat zu klassifizieren. Die Datensätze, mit insgesamt 102 Blutparametern je Proband, wurden für Männern und Frauen getrennt betrachtet, da gewisse Parameter geschlechtsabhängig sind. Eine Übersicht der Blutparameter befindet sich im Anhang (Tabelle A 2).

Frauen: Die SVM (Support Vector Machine) ergab, dass mit Hilfe aller Parameter 75,6 % der Probandinnen korrekt klassifiziert werden konnten. 24,4 % wurden falsch eingestuft. Folgende Parameter eigneten sich dabei am besten zur Trennung der beiden Klassen: CH-Verteilungsbreite (Standardabweichung des Hämoglobingehalt der Erythrozyten), Differenz MCV der Retikulozyten zu "mature cells", mittlere Zellhämoglobinkonzentration "mature RBC", Hämoglobinverteilungsbreite "mature RBC" sowie die Anzahl der hypochromen Retikulozyten. Unter Verwendung dieser Parameter wurde ein binärer Entscheidungsbaum entwickelt. Dabei wurden Entscheidungssituationen an Hand der o.g. Parameter dargestellt. An jeder Verzweigung (Knoten) wird der Parameter ausgesucht, der die signifikanteste

Trennung der Probanden erlaubt. Die so genannten Blätter sind einer Klasse zugeordnet, d.h. in diesem Fall „gesund“ oder „IDE“.

Die folgende Abbildung zeigt den Entscheidungsbaum für die Diagnose „IDE“ bei Frauen (Abbildung 11). Bezüglich der Parameter wird auch hier auf den Anhang verwiesen (Tabelle A 2)

```

Differenz MCV der Retikulozyten zu "mature cells" <= 16.7
| Anzahl hypochrome Retikulozyten <= 633: GESUND
| Anzahl hypochrome Retikulozyten > 633
| | Hämoglobinverteilungsbreite "mature RBC" <= 2.53
| | | Anzahl hypochrome Retikulozyten <= 925
| | | | CH-Verteilungsbreite = Standardabweichung Hämoglobingehalt der Erythrozyten <= 3.6: GESUND
| | | | CH-Verteilungsbreite = Standardabweichung Hämoglobingehalt der Erythrozyten > 3.6: IDE
| | | Anzahl hypochrome Retikulozyten > 925: GESUND
| | | Hämoglobinverteilungsbreite "mature RBC" > 2.53: IDE
Differenz MCV der Retikulozyten zu "mature cells" > 16.7
| Anzahl hypochrome Retikulozyten <= 156: GESUND
| Anzahl hypochrome Retikulozyten > 156: IDE

```

Abbildung 11: Entscheidungsbaum für die Diagnostik „IDE“ bei Frauen

Mit diesem Entscheidungsbaum wurden 45 der 50 gesunden Probandinnen als „gesund“ eingestuft. 31 der 38 Probandinnen mit „IDE“ wurden ebenfalls korrekt zugeordnet. Demnach konnten insgesamt 86,6 % der Probandinnen richtig klassifiziert werden.

Männer: Die SVM ergab, dass mit Hilfe aller Parameter 75 % der Probanden korrekt klassifiziert werden konnten. Hier eigneten sich folgende Parameter am besten zur Trennung der beiden Klassen: Ratio rbCHb calculated zu ret Hb, Ratio CH retikulozytär zu CH mature, Summe der Retikulozyten, Anzahl der hypochromen Retikulozyten sowie der prozentuale Anteil hypochromer Retikulozyten. Unter Verwendung dieser Parameter wurde ebenfalls ein binärer Entscheidungsbaum entwickelt (Abbildung 12).

```

% hypochrome Retikulozyten <= 0.4: GESUND
% hypochrome Retikulozyten > 0.4: IDE

```

Abbildung 12: Entscheidungsbaum für die Diagnostik „IDE“ bei Männern

Auf Grund dieser Entscheidung (% hypochrome Retikulozyten $\leq 0,4$ oder $> 0,4$) wurden alle Probanden mit einer eisendefizitären Erythropoese korrekt erkannt und eingestuft. Allerdings wurde die Hälfte der tatsächlich gesunden Probanden als „krank“ mit IDE eingeordnet. Damit wurden auch hier nur 75 % der Probanden korrekt klassifiziert.

In einem weiteren Versuch, einen besseren Klassifikator zu finden, wurden die aus der ROC-Analyse hervorgegangenen Parameter mit einer hohen Testgüte ($AUC > 0,8$) als Grundlage für den Entscheidungsbaum genommen. Mit dem Entscheidungsbaum „Diagnose für eine IDE“ bei Frauen (Abbildung 13) konnten 67,8 % korrekt klassifiziert werden, 74 % der Gesunden und 63,2 % der Probanden mit IDE. Bei den Männern konnten bei diesem Entscheidungsbaum (Abbildung 14) 66,7 % der Probanden korrekt klassifiziert werden, jeweils 2/3 der Gesunden und 2/3 der Probanden mit einer eisendefizitären Erythropoese.

```
% hypochrome normozytäre Retikulozyten <= 1.6
| MCH <= 29.7
| | % hypochrome Erythrozyten <= 0.6
| | | Anzahl normochrome normozytäre Retikulozyten <= 38322: IDE
| | | Anzahl normochrome normozytäre Retikulozyten > 38322: GESUND
| | % hypochrome Erythrozyten > 0.6: IDE
| MCH > 29.7: GESUND
% hypochrome normozytäre Retikulozyten > 1.6
| Anzahl hypochrome Erythrozyten <= 99
| | Anzahl normochrome normozytäre Retikulozyten <= 36574: GESUND
| | Anzahl normochrome normozytäre Retikulozyten > 36574
| | | % hypochrome Erythrozyten <= 0.1: IDE
| | | % hypochrome Erythrozyten > 0.1: GESUND
| Anzahl hypochrome Erythrozyten > 99: IDE
```

Abbildung 13: Entscheidungsbaum für die Diagnostik „IDE“ bei Frauen mit ausgewählten Parametern (siehe Tabelle 14)

```
% hypochrome normozytäre Retikulozyten <= 0.5: GESUND
% hypochrome normozytäre Retikulozyten > 0.5: IDE
```

Abbildung 14: Entscheidungsbaum für die Diagnostik „IDE“ bei Männern mit ausgewählten Parametern (siehe Tabelle 14)

4 Diskussion

Die Kenntnis über den Status des Eisenhaushaltes von Ausdauerathleten ist unerlässlich. Gerade für diese Subpopulation ist ein ausgeglichener Eisenhaushalt nicht nur für die allgemeine Gesundheit, sondern auch im großen Maße für die sportliche Leistungsfähigkeit entscheidend. Im Rahmen der Eisenmangeldiagnostik bei Sportlern sind nur wenige der klassischen Eisenstoffwechsellparameter geeignet, den tatsächlichen Eisenstatus anzuzeigen, da sie durch sportliche Aktivität per se beeinflusst werden können. In der vorliegenden Arbeit wurde die diagnostische Wertigkeit neuer Eisenstoffwechsellparameter untersucht. Neben der Erstellung spezifischer Referenzwerte für Ausdauersportler wurden vor allem die Stabilität nach sportlichen Belastungen, die Veränderung im Zuge einer Eisensubstitution sowie die diagnostische Validität überprüft.

Die erhobenen Daten werden nachfolgend vor dem Hintergrund der Ergebnisse anderer Veröffentlichungen diskutiert. Daraus abgeleitet soll die Validität der neuen Eisenstoffwechsellparameter hinsichtlich einer Eisenmangeldiagnostik bei Ausdauersportlern beurteilt werden.

4.1 Prävalenz von Eisenmangel bei Sportlern

In der vorliegenden Arbeit wurden Ruheblutentnahmen von 222 Ausdauersportlern analysiert. An Hand der klassischen Eisenstoffwechsellparameter Ferritin, sTfR sowie dem TfR-F-Index wurden die Probanden hinsichtlich ihres Eisenstatus differenziert (vgl. Tabelle 2).

Gemäß dieser Definition wiesen mehr als die Hälfte (59 %) der untersuchten Ausdauersportlerinnen und -sportler einen unauffälligen Eisenstatus auf, 21 % hatten einen Speichereisenmangel, die übrigen 19 % eine eisendefizitäre Erythropoese. Die Prävalenz von Eisenmangel bei Sportlern, insbesondere bei Ausdauersportlern, wurde in vielen Studien belegt [11, 77, 152]. Als Ursache werden ein erhöhter, belastungsinduzierter Verlust an Eisen, eine zum Bedarf inadäquate Eisenaufnahme oder auch belastungsbedingte Resorptionsstörungen angegeben [33, 26, 109].

Differenziert man die Daten nach dem Geschlecht, lässt sich eine Eisenmangelprävalenz bei Frauen feststellen. Bei den männlichen Probanden hatten 8 % einen Speichereisenmangel. Nur sehr wenige Sportler (6 %) hatten neben

geringen Ferritinwerten auch erhöhte sTfR-Werte oder einen erhöhten TfR-F-Index und befanden sich zum Untersuchungszeitpunkt im Stadium II des Eisenmangels, der eisendefizitären Erythropoese. Die Mehrheit (85 %) der männlichen Probanden zeigte keine Auffälligkeiten des Eisenhaushalts.

Dagegen ergaben die Blutuntersuchungen bei den weiblichen Ausdauersportlerinnen eine deutlich erhöhte Prävalenz für einen Speichereisenmangel (31 %) sowie einer eisendefizitären Erythropoese (30 %). 39 % der Frauen hatten einen unauffälligen Eisenhaushalt. Zum Zeitpunkt der Untersuchung zeigte keiner der Ausdauersportlerinnen und -sportler Anzeichen einer Eisenmangelanämie.

Dass vor allem Ausdauersportlerinnen eine erhöhte Prävalenz haben, einen Eisenmangel zu entwickeln, wurde bereits in vielen Publikationen beschrieben [30, 34, 38, 76, 119]. Diese Tatsache wird mit dem erhöhten, menstruationsbedingten Blutverlust sowie dem oft vegetarischen Ernährungsverhalten begründet [76, 130, 151]. In einer Studie von Malczewska et al. wurde der TfR-F-Index von 131 männlichen und 121 weiblichen Athleten bestimmt [77]. Dabei konnte eine signifikant höhere Existenz eines Eisenmangels bei Frauen (26%) im Vergleich zu Männern (11%) beobachtet werden. In einer weiteren Untersuchung von Malczewska et al. wurden unter 126 Ausdauerathletinnen 33 mit einem Eisenmangel gefunden. Hier war das Kriterium für die Diagnose eines Eisenmangels ein Ferritinwert unter 20 ng/l [76].

Die verhältnismäßige Verteilung in Bezug auf die Stadien des Eisenmangels sowie die geschlechtsspezifischen Prävalenzen in der vorliegenden eigenen Studie decken sich mit den Angaben der vorliegenden Literatur.

4.2 Klassische und moderne Parameter der Eisenstoffwechseldiagnostik gesunder Ausdauersportler

Im ersten Teil dieser Studie wurden die individuellen hämatologischen und die klassischen Eisenstoffwechselparameter des gesamten Probandenkollektives in Ruhe bestimmt. Die Ergebnisse liefern einen allgemeinen repräsentativen Überblick über den Eisenstatus bei Ausdauersportlern. Ziel war es vor allem, durch Blutuntersuchungen mit hohen Probandenzahlen spezifische Referenzwerte für den CHr und den % HYPO für die Subpopulation von Ausdauersportlern zu bestimmen und diese für die Praxis nutzbar zu machen, um mit der kostengünstigeren Bestimmung den teureren sTfR zu ersetzen. Entsprechend der Stadieneinteilung (Tabelle 2, S.17) wurde bei 131 Probanden ein unauffälliger Eisenhaushalt festgestellt (Ferritin

$> 20 \text{ ng/ml}$, $\text{sTfR} < 1,76 \text{ mg/l}$, $\text{TfR-F-Index} \leq 1,25$, $\text{Hb} > 12$ bzw. 13 g/dl). Die Ergebnisse der Ruheblutentnahmen werden im Folgenden diskutiert.

Die hämatologischen Parameter Erythrozytenkonzentration, Hämoglobin und Hämatokrit lagen erwartungsgemäß im unteren Normbereich und geschlechtsabhängig bei Frauen niedriger als bei Männern (Tabelle 8, S. 36). Zahlreiche Studien berichten von einem derart subnormalen Blutbild bei Ausdauertrainierten im Vergleich zu Untrainierten [9, 23, 48, 124, 130, 139, 144]. Die Verdünnungs- oder Pseudoanämie stellt eine Anpassung des Blutes an ein regelmäßiges Ausdauertraining dar und darf nicht im Sinne einer klassischen Anämie fehlinterpretiert werden (siehe hierzu auch 1.4.2). Die Leistungsfähigkeit wird dem zu Folge nicht eingeschränkt. Im Gegenteil, absolut gesehen vergrößert sich die Erythrozytenanzahl und damit die Sauerstofftransportkapazität [130]. Die klassischen Referenzwerte des roten Blutbildes können deshalb nicht zur Beurteilung für das Blutbild von Ausdauersportlern herangezogen werden. Grundsätzlich muss jedoch immer bedacht werden, dass natürlich auch Sportlerinnen und Sportler eine krankheitsbedingte Anämie entwickeln können und eine weitere Differenzialdiagnostik erforderlich ist.

Per definitionem (vgl. Tabelle 2) hatten die hier beschriebenen gesunden Probanden einen Ferritin-Wert über 20 ng/ml . Frauen hatten einen signifikant geringeren Wert gegenüber Männern (Median: $29,5$ vs. $48,0 \text{ ng/ml}$). Frauen weisen häufig niedrige Ferritinwerte auf als Männer [76, 132]. Dies bestätigen auch Clarkson et al. [28]: $20\text{--}47\%$ der untersuchten kanadischen und amerikanischen Athletinnen haben Ferritinwerte unter 12 ng/ml , verglichen mit nur $2\text{--}13\%$ der männlichen Athleten. Sinclair et al. [132] fanden bei 29% der von ihnen untersuchten Sportlerinnen und 4% der untersuchten Sportler einen Eisenmangel, welcher mit einem Ferritinwert von $\leq 16 \text{ ng/ml}$ definiert war.

Der lösliche Transferrinrezeptor und der berechnete TfR-F-Index befanden sich nach Definitionsvorgabe innerhalb der jeweiligen Referenzbereiche und zeigten daher kaum Auffälligkeiten. Lediglich der Index wies einen geringen, aber signifikanten, Unterschied zwischen den Geschlechtern auf (Männer $0,66$ vs. Frauen $0,71$). Grund ist der geschlechtsspezifische Ferritin-Wert, welcher als Parameter in die Berechnung des Index eingeht.

Der vom Labor angegebene Referenzbereich des CHr für Normalpersonen liegt bei $28\text{--}35 \text{ pg}$. Die mittleren Werte der untersuchten Ausdauersportler befanden sich mit $32,8 \text{ pg}$ für Männer und $32,1 \text{ pg}$ für Frauen eher im oberen Teil des vom Labor angegebenen Referenzbereiches. In der vorliegenden Literatur findet sich lediglich eine

Publikation, in der geschlechtsspezifische Werte aufgezeigt wurden. In der Arbeit von Ashenden et al. [5] wurde mit 29,9 pg für Männer und 29,4 pg für Frauen ebenfalls ein statistischer Unterschied gefunden. In der allgemeinen Literatur sowie der klinischen Praxis werden jedoch keine geschlechtsspezifischen Werte für den CHr angegeben [82, 84]. Auf Grund des nur geringfügigen Unterschiedes in der vorliegenden Arbeit wird der CHr im Folgenden nicht getrenntgeschlechtlich betrachtet. Der Medianwert für Männer und Frauen beträgt 32,6 pg.

Tabelle 15 zeigt unterschiedliche Literaturangaben für den Median des CHr.

Tabelle 15: Übersicht unterschiedlicher Mediane für den CHr [pg]; Analysegeräte: * = Technicon H*3; # = ADVIA® 120 (Bayer Diagnostics)

Autor	n	Probandenkollektiv	Median - CHr [pg]
Eigene Studie	131	Ausdauersportler	32,6 #
d'Onofrio [36]	64	Normalpersonen	28,6 *
Mast et al. [84]	34	Normalpersonen	30,8 #
Marković et al. [80]	66	Normalpersonen	30,8 #

Da der CHr bei Ausdauersportlern bislang kaum untersucht wurde, liegen keine spezifischen Referenzbereiche für diese Subpopulation vor. Deshalb wurde hier eine Referenzpopulation von Ausdauersportlern definiert, die in ihrem Querschnitt der Subpopulation von Ausdauersportlern entspricht, auf die die gewonnenen Referenzwerte angewandt werden sollen. Da keine Gauß-Verteilung vorlag, wurde der Referenzbereich nicht-parametrisch als Rangwert mit den 2,5- und 97,5- Perzentilen für untere bzw. obere Grenzen angegeben. Der zentrale 95% - Interperzentilbereich der Verteilung ist demnach der Bereich, in dem 95% aller Meßwerte liegen (siehe 3.1.1). Der berechnete Referenzbereich für das Gesamtkollektiv der untersuchten Ausdauersportler lag bei 28,8 - 35,9 pg und befand sich somit leicht oberhalb des Referenzbereiches des Labors.

In der Literatur findet sich lediglich eine Studie, in der Referenzwerte für den CHr bei sportlich aktiven Personen publiziert wurden. Ashenden et al. [5] verwiesen ebenfalls auf höhere Werte bei den von ihnen untersuchten Athleten gegenüber Literaturdaten von inaktiven Personen. Die von Ashenden et al. publizierten Referenzwerte (26,8 – 32,1 pg für Frauen und 27,5 – 32,3 pg für Männer) gehen auf Ruheblutentnahmen von

122 Athleten verschiedener Sportarten wie z.B. Basketball, Boxen, Schwimmen und Rudern zurück. Der angegebene Referenzbereich ist niedriger als der der untersuchten Ausdauerathleten in der vorliegenden Studie. Neben Unterschieden im Studiendesign kann hier grundsätzlich der Anpassungsmechanismus in Folge eines langjährigen Ausdauertrainings ursächlich diskutiert werden. Ausdauersport führt u.a. zur Stimulation von Erythropoetin und damit zu einer gesteigerten Erythrozyten- und Hämoglobinproduktion [124]. Offenbar spiegelt sich diese in höheren CHR-Werten bei Ausdauersportlern im Vergleich zu inaktiven Personen oder Sportlern aus anderen Sportarten mit geringem Ausdaueranteil wider. Ashenden et al. differenzierten das Probandengut nicht nach Spiel-, Kampf- und (Kraft-) Ausdauersportarten und auch der Ausdaueranteil in den von Ashenden et al. gewählten Sportarten war vergleichsweise gering und wird nicht weiter definiert. Die eigenen Ergebnisse sind somit nur bedingt mit denen von Ashenden et al. vergleichbar.

Darüber hinaus muss vermutlich die nicht einheitliche Methodik als weitere Begründung angeführt werden. Die Messunterschiede können durch die Verwendung unterschiedlicher Hämatologieanalysegeräte bedingt sein. Die Blutproben in der vorliegenden Studie wurden mit dem ADVIA® 120 (Bayer Diagnostics), die von Ashenden et al. mit dem Vorgängermodell Technicon H*3 analysiert. Weitere Vergleichsstudien wurden bislang nicht publiziert.

Für den Anteil der hypochromen Erythrozyten lag der Median mit 0,1 % unauffällig im unteren Normbereich < 2,5 %. Dieser wird in der Literatur sowie in der klinischen Praxis einheitlich verwendet. Befunde über 10 % zeigen mit hoher Sensitivität eine eisendefizitäre Erythropoese an [73, 138]. Der prozentuale Anteil der hypochromen Erythrozyten wird als Parameter für die Beurteilung der Eisenverwertung während der Erythropoese bereits erfolgreich in der klinischen Praxis bei Hämodialysepatienten verwendet. Schaefer et al. [127] bestätigen in ihrer Studie eine klare Differenzierung zwischen Hämodialysepatienten mit einer eisendefizitären Erythropoese (22 ± 5 % hypochrome Erythrozyten) und denen mit einer Eisenüberladung ($1 \pm 0,5$ % hypochrome Erythrozyten). Es konnten keine Geschlechtsunterschiede festgestellt werden.

Die Berechnung der 2,5- und 97,5- Perzentile (siehe 3.1.1) ergab einen Referenzbereich von 0 – 0,5 % für Ausdauersportler. In der Literatur wurden keine Vergleichswerte von Ausdauersportlern gefunden. Hier müssen weitere Untersuchungen folgen.

Die aus den vorliegenden Ergebnissen abgeleiteten Referenzwerte müssen kritisch betrachtet werden. Referenzwerte sollen grundsätzlich den Zustand eines gesunden Menschen bei regelrechter Organfunktion widerspiegeln. Für die ideale Referenzpopulation ist daher völlige Gesundheit zu fordern [134]. Die Referenzpopulation der vorliegenden Studie wurde entsprechend der Stadieneinteilung (Tabelle 2, S. 17) ausgewählt. Als „gesund“ wurden alle Probanden mit einem Ferritin von > 20 ng/ml, einem sTfR $< 1,76$ mg/l, einem TfR-F-Index $\leq 1,25$ und einem Hb > 12 bzw. 13 g/dl definiert. Mit dem Akute-Phase-Protein Ferritin geht ein Parameter in die Entscheidungsgrundlage ein, welcher auf Grund seiner Veränderung in Folge körperlicher Belastungen nicht hundertprozentig valide für die Diagnostik eines Eisenmangels bei Ausdauersportlern ist. Deshalb ist der ermittelte Referenzbereich nur begrenzt aussagefähig. Grundsätzlich können Referenzbereiche nur als Anhaltspunkt dienen. Sie sind von der Auswahl und Größe des untersuchten Probandenkollektivs, von der Messmethodik und den regionalen Bedingungen abhängig. Eine Überschreitung dieses so genannten Bezugssystems impliziert nicht die Verifizierung einer vermuteten Pathologie. Umgekehrt ist ein Messwert, der sich innerhalb des Referenzbereiches befindet nicht unbedingt mit dem Begriff „normal“ bzw. „gesund“ verknüpft [122100].

Die in dieser Studie ermittelten Referenzwerte dienen als erste Orientierung, welche in Vergleichsstudien bestätigt werden müssen.

4.3 Einfluss sportlicher Belastungen auf moderne Eisenstoffwechselfparameter

4.3.1 Einfluss von regenerativen, extensiven und intensiven Belastungen in verschiedenen Sportarten

Durch gezielt veränderte präanalytische Bedingungen wurde der Einfluss verschiedener Sportarten sowie Belastungsintensitäten und -umfänge auf die Parameter CHr und % HYPO überprüft.

Nach regenerativen, extensiven und intensiven Ausdauerbelastungen bleibt der CHr konstant und zeigt zuverlässig die aktuelle Eisenversorgung der Erythropoese im Knochenmark an. Untersuchungen von Ashenden et al. bestätigen ebenfalls die Stabilität des CHr [5]. In der Studie wurden keine signifikanten intraindividuellen Veränderungen von Retikulozytenindizes von 12 Athletinnen während einer viermonatigen intensiven Trainingsperiode verzeichnet. In einer Studie von Fallon et al. [42] wurden eine Vielzahl erythrozytärer und retikulozytärer Parameter im Rahmen eines Ultramarathon untersucht. Im Ergebnis wurde das erythropoetische System als bemerkenswert stabil bewertet.

Dass der CHr nicht durch inflammatorische Zustände beeinflusst wird, zeigt u.a. die Studie von Marković et al. [80]. Bei Patienten mit einer Anämie chronischer Erkrankungen waren die Werte des CHr identisch zu denen von Kontrollpersonen. Die Messung des CHr bleibt als quantitative Bestimmung des tatsächlich für die Hämoglobinisierung verwendeten Eisens bei Erkrankungen mit Akute-Phase-Reaktion oder bei anderen Grunderkrankungen unbeeinflusst. Die aktuelle Qualität der Erythropoese kann somit immer zeitnah erfasst werden. Aus diesem Grund wird der CHr als zuverlässiger Parameter im Rahmen der Eisenstoffwechseldiagnostik und der Therapieüberwachung in der klinischen Praxis verwendet. Die Stabilität des CHr wird auch in anderen Studien mit Nichtsportlern bestätigt. So beschrieben Mitsuiki et al. [90] den CHr als zuverlässigen Eisenstoffwechselfparameter bei Hämodialysepatienten mit akuter Atemwegsinfektion.

Auch bei dem prozentualen Anteil hypochromer Erythrozyten waren keine belastungsinduzierten Veränderungen zu verzeichnen. In Abhängigkeit von der Sportart wurden geringfügige, biologisch jedoch nicht relevante, Unterschiede

hinsichtlich der Ausgangswerte gefundenen. Die Zuverlässigkeit und Stabilität des Parameters wurde bereits in vielen Studien mit Hämodialysepatienten und Patienten mit anderen anämischen Krankheitsbildern untersucht und bestätigt [15, 63, 68, 126, 138]. Vergleichsstudien hinsichtlich Veränderungen nach sportlichen Belastungen wurden nicht publiziert.

Zusammenfassend kann konstatiert werden, dass der CHr und der % HYPO nach regenerativen, extensiven sowie intensiven Ausdauerbelastungen konstant bleibt und zuverlässig und somit unbeeinflusst von der (Ausdauer-) Sportart als auch von Belastungsdauer und/oder -intensität, die aktuelle Eisenversorgung der Erythropoese im Knochenmark anzeigt. Zumindest bis zu 24 Stunden nach Belastung scheint der Eiseneinbau in die Retikulozyten bzw. die Hämoglobinisierung der Retikulozyten nicht gestört zu sein.

Im Rahmen dieses Studienteils wurde auch das Verhalten der Pro-Hepcidin-Konzentrationen nach gezielt veränderten präanalytischen Bedingungen untersucht. Neue Studien zeigen, dass zusätzlich zu den bereits gut erforschten Mechanismen des Eisenverlusts auch die entzündungsbedingte Veränderung des Eisen-regulierenden Hormons Hepcidin einen großen Einfluss auf den Eisenstatus von Ausdauersportlern haben kann [109].

Die Analyse der Pro-Hepcidin-Konzentrationen in Ruhe zeigte bei den Probanden Unterschiede hinsichtlich der verschiedenen Ausdauersportarten. So wiesen Läufer gegenüber Schwimmern und Radsportlern eine signifikant höhere Pro-Hepcidin-Konzentration auf (114,3 vs. 79,2 vs. 89,4 ng/ml). Peeling et al. vermuten, dass der belastungsinduzierte Anstieg von Interleukin-6 (IL-6) zu höheren Hepcidinkonzentrationen führen kann [109]. Vor allem langandauernde Belastungen bewirken die Produktion des IL-6 im Skelettmuskel. Ostrowski et al. fanden bei Läufern einen deutlichen Anstieg des IL-6 (63-fach erhöht) nach einem Marathon. Das Zytokin war zudem im Rahmen einer Muskelbiopsie nachweisbar, so dass u.a. eine lokale Produktion als Antwort auf die langandauernde Belastung geschlussfolgert werden konnte [104]. Auch Langberg et al. fanden 50-fach erhöhte IL-6-Werte nach einem 36km-Lauf [70]. Aus der Übersichtsarbeit von Fischer [43] wird zudem deutlich, dass der höchste Anstieg von IL-6 meist in Folge einer Laufbelastung gefunden wird. Grund dafür ist die hohe Beanspruchung mehrerer großer Muskelgruppen während des Laufens. Dies könnte eine Erklärung für die höhere Pro-Hepcidin-Konzentration der Läufer in Ruhe sein. Beim Radfahren und Schwimmen werden vergleichsweise weniger große Muskelgruppen benutzt. Beim Laufen kommt es zudem vermehrt zu

belastungsinduzierten Mikrotraumen und damit zur Destruktion von Muskelfasern. Die hieraus resultierenden Entzündungen können ebenfalls zum Anstieg von Hepcidin führen. Viele Studien haben gezeigt, dass Hepcidin ein Akute-Phase-Reaktant ist, welches durch Interleukin-6 und somit durch Infektionen und Entzündungen vermehrt aktiviert und synthetisiert wird [92, 96, 99, 131].

Im zeitlichen Verlauf, bis zu 24h nach der Belastung, zeigte die Pro-Hepcidin-Konzentration keine signifikanten Veränderungen. Dieses Ergebnis deckt sich nicht mit den Ergebnissen anderer Studien. Röcker et al. untersuchten die Hepcidinkonzentration im Urin bei 14 Marathonläuferinnen und fanden einen signifikanten Anstieg nach dem Lauf, mit den höchsten Werten einen Tag nach der Belastung [123]. In einer aktuellen Studie von Peeling et al. wurde ebenfalls eine Zunahme der Hepcidinkonzentration nach einem 10x1000m-Intervalltraining sowie einem 10km-Lauf gefunden [108]. In weiteren Studien wurden die höchsten IL-6-Akkumulationen, die wie oben beschrieben zum Anstieg von Hepcidin führen, direkt nach der Belastung beobachtet [44, 103]. In der Übersichtsarbeit von Fischer zeigt ein Vergleich mehrerer Studien, dass weniger die Intensität, sondern vielmehr die Dauer der Belastung die Menge an synthetisiertem IL-6 bestimmt [43]. Kurze Trainingseinheiten oder Einheiten mit niedriger Belastung führen zwar auch zu IL-6-Akkumulationen, diese lassen jedoch keine relevanten Auswirkungen erwarten. In der vorliegenden Studie wurde neben einer 30minütigen intensiven und regenerativen Belastung eine extensive Belastungseinheit bei 80 % der IAS über 60 min absolviert. Diese Einheiten waren vermutlich von zu kurzer Dauer, um einen sichtbaren Hepcidinanstieg zu bewirken. Der Vergleich mehrerer Studien zeigt, dass sportliche Belastungen unter einer Stunde höchstens eine IL-6-Konzentration von unter 10 pg/ml verursacht, unabhängig von der Art der Belastung. Das entspricht einem 10-fachen Anstieg im Vergleich zum Ausgangswert. Länger andauernde Belastungen können zu 20-120-fachen Anstiegen des IL-6 führen [43].

Dass in der vorliegenden Studie keine Veränderungen der Pro-Hepcidin-Konzentration zwischen den verschiedenen Belastungsintensitäten (intensiv, regenerativ und extensiv) bzw. den unterschiedlichen Sportarten gefunden wurde, kann mit den obigen Ausführungen begründet werden.

Problematik Hepcidin im Ausdauersport

Es ist hinlänglich bekannt, dass im Rahmen chronischer Erkrankungen die Menge an zirkulierendem IL-6 zunimmt [51, 149]. Dies bewirkt, wie bereits beschrieben, eine Up-Regulation der Hepcidinproduktion mit anschließendem Abfall des Serumeisenspiegels und kann letztendlich zu einer Anämie führen [51, 94]. Da die Entzündungssymptome nach hochintensiven Belastungen denen bei chronischen Erkrankungen gleichen [41, 79], lässt sich vermuten, dass sich die Hepcidinaktivität ähnlich verhält und somit neue Erkenntnisse hinsichtlich des Eisenmangel bei Sportlern gewonnen werden können. So wäre es denkbar, dass eine andauernd hohe Hepcidinkonzentration zur Entwicklung von Eisenmangelzuständen, auf Grund der inhibitorischen Wirkung von Hepcidin auf die intestinale Eisenabsorption sowie auf die Freisetzung von Eisen aus den Makrophagen während der physiologischen Hämolyse, führt [94]. Um diese Negativwirkung von Hepcidin zu hemmen, wäre die Entwicklung eines Hepcidin-Antagonisten für therapeutische Anwendungen notwendig [61].

Die Studien von Röcker et al. [123] und Peeling et al. [108] sind neben der vorliegenden Studie die bislang einzigen Untersuchungen, die das Verhalten von Hepcidin nach sportlichen Belastungen beobachtet haben.

Weitere Studien, in denen die Hepcidinaktivität in Abhängigkeit von Belastungsintensität und -dauer sowie der Trainingshäufigkeit untersucht wird, müssen folgen. Die Bestimmung der Blutmarker IL-6 und CRP (C-reaktives Protein) nach der Belastung ist dabei notwendig, um den Grad der Entzündung und den damit verbundenen Anstieg von Hepcidin abzuschätzen. Im Bereich des (Ausdauer-)Sports wäre zudem die Ermittlung einer „Schwellenbelastung“, die zum Hepcidinanstieg führt, sinnvoll.

4.3.2 Einfluss eines Marathonlaufes

Blut- und Eisenstoffwechsellparameter unterliegen dem Einfluss langandauernder sportlicher Belastung. In Abhängigkeit verschiedener externer Faktoren, wie Art, Dauer und Intensität der Belastung verändert sich die prozentuale Zusammensetzung des Blutes. Die klassischen Referenzwerte des roten Blutbildes können deshalb nicht bzw. nur begrenzt zur Beurteilung des Blutbildes und des Eisenstatus von Ausdauersportlern herangezogen werden. Neben den klassischen Blut- und Eisenstoffwechsellparametern wurden im Rahmen dieser Untersuchungen die neuen Parameter CHr und % HYPO nach hoher körperlicher Belastung, wie sie bei einem Marathon zu finden ist, untersucht.

Die Blutbildparameter Erythrozytenkonzentration, Hämoglobin und Hämatokrit zeigten keine signifikanten Veränderungen in dem Prä-/Postvergleich von 75 Marathonläuferinnen und -läufern. Die Stabilität dieser Parameter wurde bereits in verschiedenen Studien mit ähnlichem Studiendesign beobachtet. Duca et al. [39] untersuchten acht Läufer vor und nach einem Halbmarathon und fanden keine Veränderungen dieser Parameter. Auch bei extremen Laufbelastungen im Rahmen von Bergmarathons und Ultrabergläufen konnten Banfi et al. [6] keine Unterschiede zwischen den prä- und post-Werten finden. Hier erfolgte eine Blutanalyse bei 124 Athleten vor und nach verschiedenen Laufwettbewerben. Banfi et al. verweisen auf weitere Studien mit ebenfalls vergleichbaren Ergebnissen.

Grundsätzlich kann es jedoch unmittelbar nach akuter körperlicher Ausdauerleistung in Abhängigkeit von Dauer, Intensität, Klima und Wasserbilanz zu einer Hämokonzentration kommen. Die Reduktion des Plasmavolumens führt zu einem transitorischen Anstieg des Hämatokritwertes sowie der Hämoglobin- und Erythrozytenkonzentration um 10-30% [9, 124]. Als Grund wird ein erhöhter Flüssigkeitsverlust angegeben. Die Folge dieser Hämokonzentration ist eine überschießende, hormonell vermittelte Flüssigkeitsretention. Diese bewirkt eine ein bis fünf Tage anhaltende Zunahme des Plasmavolumens um bis zu 20-25 % [48]. In der vorliegenden Studie wurde keine Hämokonzentration beobachtet. Es kann davon ausgegangen werden, dass die Probanden während des Marathons ausreichend Flüssigkeit zu sich nahmen. In der Regel nehmen Frauen, bezogen auf das Körpergewicht, mehr Flüssigkeit während eines Laufes auf als Männer [57].

Die neuen Parameter des Eisenstoffwechsels, CHr und % HYPO, zeigten keine Veränderungen unmittelbar nach dem Marathon. In der bereits genannten Studie von Duca et al. wurden identische Ergebnisse hinsichtlich des CHr nach einem Halbmarathon beschrieben. In der vorliegenden Literatur konnten keine vergleichbaren Studien mit Untersuchungen zum prozentualen Anteil der hypochromen Erythrozyten gefunden werden.

Im Vergleich zu anderen Studien wurde nicht nur ein Prä-/Postvergleich durchgeführt. Bei 18 Marathonläuferinnen wurde das Verhalten der Indikatoren bis zu acht Tagen nach der Belastung beobachtet. Die klassischen hämatologischen Parameter Erythrozytenkonzentration, Hämoglobin und Hämatokrit zeigten beim Vergleich der Ausgangswerte und der Werte, die acht Tage nach dem Marathon gemessen wurden, keine signifikanten Veränderungen. Geringfügige Konzentrationsabfälle nach dem Marathonlauf bis zum Zeitpunkt d1 können auf eine Hämodilution zurückgeführt werden [125]. Es wird vermutet, dass die Athletinnen in den ersten Tagen nach dem Marathon vermehrt Flüssigkeit zuführten, um den Verlust durch den Lauf zu kompensieren. Eine Woche nach dem Marathon waren das Gleichgewicht des Flüssigkeitshaushaltes und damit die Ausgangswerte wiederhergestellt. Die physiologischen Effekte der Plasmavolumenexpansion bei Ausdauersportlern sind auch in dieser Untersuchungsgruppe erkennbar. Die o.g. Werte liegen allgemein im unteren Normbereich. Das Phänomen wurde bereits vielfach beschrieben [9, 123, 129, 137] und im Kapitel 1.4.2 ausführlich dargestellt.

Sowohl der Hämoglobingehalt der Retikulozyten als auch der Anteil hypochromer Erythrozyten blieben bis acht Tage nach dem Marathon unverändert.

Untersuchungen von Ashenden et al. bestätigen die Stabilität des CHr. In der Studie wurden keine signifikanten intraindividuellen Veränderungen von Retikulozytenindizes von 12 Athletinnen während einer viermonatigen intensiven Trainingsperiode verzeichnet [1]. Somit sind sowohl der CHr als auch weitere Retikulozytenindizes als zuverlässige Parameter der Erythropoese bei Ausdauersportlern zu werten.

Das Akute-Phase-Protein Ferritin war nach dem Lauf deutlich erhöht (prä: 17,5 ng/ml; post: 30,5 ng/ml; $p < 0,001$) und stieg bis d1 weiter an. Drei Tage nach der Ausdauerbelastung war Ferritin immer noch erhöht (d3: 24,4 ng/ml), erst am letzten Untersuchungstag (d8) wurden wieder Ausgangswerte erreicht.

Die Akute-Phase-Reaktion des Ferritins ist im Sport hinlänglich bekannt [5, 74, 124, 129] und wurde bereits beschrieben (Kapitel 1.4.3). Hulten [62] berichtet in seiner

Arbeit, dass bereits durch kleine Infektionen, beispielsweise eine Entzündung der Atemwege, die Serumferritinkonzentration im darauf folgenden Monat erhöht ist. Eine langandauernde physische Belastung, wie sie bei einem Marathon zu finden ist, kann entzündliche Prozesse hervorrufen. In Folge dessen wird die Ferritinsynthese im retikuloendothelien System erhöht. Auch die Beschädigung von Zellmembranen in Ferritin-speichernden Geweben mit anschließender Freisetzung von Ferritin in das Blutplasma führt zu erhöhten Ferritinwerten an den nachfolgenden Tagen [75, 74, 129]. Auf Grund dieser Auswirkungen auf den Eisenstoffwechsel ist Ferritin als klassischer Indikator eines Körpereisenmangels bei Ausdauersportlern in Phasen mit hoher körperlicher Belastung nicht die geeignete Kenngröße für die Diagnostik des Eisenstatus.

Am letzten Untersuchungstag wurden wieder Ausgangswerte erreicht. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass die erhöhte Ferritinkonzentration ausschließlich durch die belastungsinduzierte Akute-Phase-Reaktion bedingt war.

Der lösliche Transferrin-Rezeptor zeigte direkt nach dem Lauf höhere Werte (prä: 1,33 mg/l; post: 1,42 mg/l; $p < 0,05$). Dieser Anstieg ist auf die bereits beschriebene Hämokonzentration zurückzuführen. Im zeitlichen Verlauf blieb der Parameter jedoch stabil.

Mehrere Autoren empfehlen den sTfR als soliden Marker für einen Eisenmangel bei Ausdauersportlern [74, 77, 121, 129, 145]. Malczewska et al. führten eine Studie mit zehn weiblichen Judokas im Rahmen eines zehntägigen Trainingslagers der Nationalmannschaft durch. Sie verglichen täglich die Effekte der physischen Belastung auf die Ferritinkonzentration sowie den sTfR und bestätigten, dass der sTfR der stabilere Indikator des Eisenstatus auch unter hoher Belastung ist [74]. Zu dem Ergebnis kamen auch Schuhmacher et al. In dieser Studie wurde der Einfluss verschiedener sportlicher (Ausdauer-)Belastungen (Stufentest, 45-minütiger Lauf bei konstanter Geschwindigkeit und 70% VO_2 max, mehrtägiges aerobes Radfahren) auf den sTfR und andere Eisenstoffwechselparameter untersucht [129]. Eine Arbeit von Röcker et al. bestätigt, dass die sTfR-Konzentration auch unmittelbar nach langen Ausdauerbelastungen, in diesem Fall einem Triathlon, unverändert bleibt [121]. Im Gegensatz zu Serumferritin ist der lösliche Transferrinrezeptor unabhängig von einer Akute-Phase-Reaktion. Zudem bestehen weder Geschlechtsunterschiede noch eine Altersabhängigkeit [120]. Die Stabilität des sTfR kann durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigt werden.

Der TfR-F-Index verhielt sich invers ($p < 0,05$) zu Ferritin. Die Veränderungen waren jedoch im Vergleich zu Ferritin abgeschwächt. Nach einem Abfall der Werte bis d3 wurden zum Zeitpunkt d8 wieder Ausgangswerte erreicht. Auch in den Studien von Suominen et al. [137] und Malczewska et al. [77] wurde der TfR-F-Index für die Diagnostik des Eisenstoffwechsels verwendet. Er wurde als besserer Parameter für das Aufdecken eines Eisenmangels gewertet als das Ferritin oder der sTfR allein.

Abschließend muss darauf hingewiesen werden, dass sich der TfR-F-Index auf Grund der Akute-Phase-Reaktion des Ferritin nicht immer zur Beurteilung des Eisenstatus bei Ausdauersportlern eignet. Die 3-5 Tage langandauernde Erhöhung des Ferritinspiegels nach sportlicher Belastung wurde bereits beschrieben. Im Zweifelsfall sollten deshalb immer weitere Parameter hinzugezogen werden.

Zusammenfassend kann konstatiert werden, dass Belastungen unterschiedlicher Intensität und Dauer keinen Einfluss auf die neuen Parameter CHr und % HYPO haben.

4.4 Verhalten moderner Eisenstoffwechselfparameter unter Substitution

Der Retikulozytenparameter CHr und der prozentuale Anteil hypochromer Erythrozyten gelten als frühe Indikatoren einer Eisenunterversorgung im Knochenmark [46]. Der CHr zeigt die aktuelle Eisenverfügbarkeit der letzten ein bis zwei Tage, da er von der Eisenversorgung während der Erythropoese abhängig ist [141]. Der Anteil der hypochromen Erythrozyten spiegelt die Eisenversorgung der letzten Wochen wider, denn der Hämoglobingehalt der Einzelzelle ist ebenfalls von den Bedingungen während der Erythropoese abhängig.

Die Validität beider Parameter im Rahmen eines Monitoring während einer Eisensubstitution wurde bislang vor allem bei Hämodialysepatienten unter Erythropoetintherapie bestätigt. Um bei diesen Patienten eine Anämie zu verhindern, wird durch die Verabreichung von rekombiniertem Erythropoietin (rHuEPO) die Erythropoese nachhaltig stimuliert. Eine optimale Eisenversorgung ist daher essentiell. Wird der erhöhte Eisenbedarf nicht adäquat gedeckt, kommt es zu einer eisendefizitären Erythropoese. In der klinischen Praxis ist deshalb oft eine intravenöse Eisentherapie indiziert.

Chuang et al. [27] untersuchten die diagnostische Wertigkeit des CHr sowie stark absorbierender (unreifer) Retikulozyten hinsichtlich einer frühen Vorhersage auf das Ansprechen einer intravenösen Eisentherapie bei 65 Hämodialysepatienten unter Erythropoetintherapie. Die Veränderungen beider Parameter nach zwei bzw. vier Wochen korrelierten stark mit dem Ansprechen der Patienten auf die Therapie. Demnach erlauben der CHr sowie die stark absorbierenden Retikulozyten ein genaues Monitoring einer intravenösen Eisentherapie (Sensitivität 96 %, Spezifität 100 %). Auch Mittman et al. [91] untersuchten Dialysepatienten unter Erythropoetintherapie. Sprachten die Patienten mit einem Anstieg der Retikulozytenanzahl um mehr als 1 % auf eine einmalige intravenöse Eisensubstitution (500 mg) an, wurde eine eisendefizitäre Erythropoese diagnostiziert. Bei 82 % dieser Patienten nahm der CHr um mehr als 2 pg innerhalb der ersten 48 Stunden zu. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Retikulozytenindizes eine Beurteilung der eisendefizitären Erythropoese sowie die Wirksamkeit der Eisentherapie in „Echtzeit“ erlauben [21].

Auch bei Patienten mit Eisenmangel ohne Anämieanzeichen beobachteten Brugnara et al. [21] einen frühen Anstieg des CHr. Nach zwei Wochen oraler Eisentherapie stieg

der Hämoglobingehalt der Retikulozyten von anfänglich $18,1 \pm 3,2$ auf $23,4 \pm 3,1$ pg. Auch die Messung der absoluten Retikulozytenzahl (prä $65.150 \pm 29.300/\mu\text{l}$; post $130.450 \pm 60.000/\mu\text{l}$) zeigte eine deutliche Reaktion auf die Supplementation. In einer weiteren Studie wurde gesunden Probanden mit unauffälligen CHr-Werten (28 pg) rekombiniertes Erythropoietin verabreicht. Innerhalb der ersten zehn Tage sanken die CHr-Werte auf 24 pg. Nachdem die Behandlung eingestellt wurde, wurden wieder Ausgangswerte gemessen.

In einer Studie von Tessitore et al. [138] wurde neben dem CHr u.a. der prozentuale Anteil der hypochromen Erythrozyten auf seine diagnostische Wertigkeit untersucht. Darüber hinaus wurden Grenzwerte berechnet und verglichen. In der Studie mit 228 Hämodialyse-Patienten wurde die Erythropoetintherapie an Hand des Anteils hypochromer Erythrozyten gesteuert. Die durchschnittlich erforderliche Dosis konnte so nahezu halbiert werden. Die Ergebnisse zeigten, dass die Kombination des % HYPO (Cut-off $> 6 \%$) mit dem CHr (Cut-off ≤ 29 pg) die höchste Aussagekraft in Bezug auf das Ansprechen auf eine intravenöse Eisentherapie bietet. In den „European Best Practice Guidelines for the Management of Anemia with Chronic Renal Failure“ werden die hypochromen Erythrozyten als bester Parameter für die Beurteilung der Eisenverwertung in der Erythropoese empfohlen. Als Richtgröße für die Therapie wird ein oberer Schwellenwert von 5 % hypochromer Erythrozyten angegeben, der bei Hämodialyse-Patienten unter Erythropoetintherapie nicht überschritten werden sollte. Diese Empfehlung konnte u.a. von Richardson et al. bestätigt werden [118]. In einer retrospektiven Studie mit 125 Hämodialyse-Patienten identifizierte der Anteil hypochromer Erythrozyten mit höchster Sensitivität diejenigen Patienten, die von einer zusätzlichen Eisenmedikation mit einem deutlichen Anstieg des Hämoglobins profitierten. Schaefer et al. zeigten in ihrer Arbeit ebenfalls, dass mit der Bestimmung des Anteils hypochromer Erythrozyten eine optimale Abstimmung zwischen Erythropoetin- und Eisengabe möglich ist [126]. In einer Studie mit 10 Dialysepatienten wurde vor dem Beginn der Erythropoetintherapie ein Ausgangswert von 2,1 % für den % HYPO gemessen. Nach Therapiebeginn mit Erythropoetin stieg der Parameter innerhalb von vier Wochen auf 15,3 %. Die darauf folgende intravenöse Eisentherapie führte wiederum zu einer Reduktion auf 5,5 % nach weiteren vier Wochen. Neben einer Verbesserung des Therapiemanagements kann die Bestimmung des % HYPO auch wesentlich zur Kostensenkung beitragen.

Das Monitoring an Hand der beiden Parameter im Rahmen einer Eisentherapie bei (Ausdauer-)Sportlern wurde bislang nicht untersucht bzw. publiziert. Wie bereits

beschrieben besteht im Ausdauersport eine große Notwendigkeit, die aktuelle Balance zwischen Eisenbedarf und Eisenversorgung der Erythropoese zu erkennen, um ein Ungleichgewicht mit daraus resultierenden Leistungseinbußen adäquat behandeln zu können. Da ein Eisenmangel negative Auswirkungen auf den Sauerstofftransport und die -verwertung haben kann, empfehlen andere Autoren eine Eisensubstitution ab einem Ferritinwert von unter 12-20 ng/ml bei Sportlern [26, 28].

In der vorliegenden Studie wurden zehn Probanden mit einem Speichereisenmangel (Ferritin < 20 ng/ml, sTfR > 1,76 mg/l, TfR-F-Index $\geq 1,25$) eine orale Eisentherapie mit 100 mg Eisen täglich über sieben Wochen verabreicht. In der Literatur finden sich viele Substitutionsstudien, die mit Sportlern – insbesondere Ausdauersportlern – durchgeführt wurden. In diesen Studien wurde vor allem eine mögliche Verbesserung der physischen Leistungsfähigkeit im Rahmen einer Eisensubstitution untersucht [49, 65, 107, 151].

Ziel der vorliegenden Studie war es, zu überprüfen, inwieweit die neuen Parameter schnell und sensibel ein Monitoring bei Eisensupplementation zulassen.

Die Ergebnisse zeigten keine signifikanten Veränderungen hinsichtlich der hämatologischen Parameter Erythrozytenzahl, Hämoglobin und Hématokrit. Analoge Ergebnisse veröffentlichten Friedmann et al. [49], Klinshirn et al. [65] und Hinton et al. [58]. In den vorgenannten Studien wurden männliche und weibliche Ausdauersportler mit Speichereisenmangel, aber ohne Anämie ($Hb \geq 12$ g/dl), substituiert. Den Probanden wurden 20 mg [58], 100 mg [65] bzw. 200 mg [49] Eisen über einen Zeitraum von sechs [58], acht [65] bzw. zwölf [49] Wochen verabreicht. Die o.g. Blutbildparameter blieben im prä/post-Vergleich unverändert. Da die Ausgangswerte unauffällig im Normbereich lagen, kann davon ausgegangen werden, dass die Erythropoese zu dem Zeitpunkt nicht vom Speichereisenmangel beeinflusst war. Gleichzeitig bestätigt der unveränderte Hämoglobinwert, dass die Probanden nicht anämisch waren.

In der vorliegenden Studie stieg das Eisenspeicherprotein Ferritin über die Dauer von sieben Wochen kontinuierlich an (prä 8,0 [5,0/14,0]; post 22,0 [16,0/37,0] ng/ml). Der Eisenstatus der Probanden verbesserte sich demnach signifikant. Viele Substitutionsstudien, u.a. auch bei Sportlern, lieferten diesbezüglich vergleichbare Resultate. Bei der Studie von Klinshirn et al. [65] findet sich ein ähnliches Studiendesign. Hier wurden 18 Läuferinnen mit Eisenspeichermangel (Ferritin < 20 ng/ml) über acht Wochen mit täglich 100 mg Eisen substituiert. Ferritin stieg signifikant an (prä 11,6 ng/ml; post 23,4 ng/ml). Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei

anderen, vergleichbaren Studien (Tabelle 16) gefunden. Dabei scheint die positive Wirkung auf den Eisenstatus nicht von der Menge des verabreichten Eisens abzuhängen. Hinton et al. [58] und Zhu et al. [151] verwendeten in ihren Studien lediglich 20-45 mg elementares Eisen pro Tag.

Tabelle 16: Ergebnisse anderer Studien zur Veränderung von Ferritin nach Eisensubstitution

Autor	n	tägl. Eisengabe [mg]	Ferritin [ng/ml]	
			prä	post
Eigene Studie	10	100	8,0	22,0*
Hinton et al. [58]	22	2x10	10,4	14,5*
Klinshirn et al. [65]	18	2x50	11,6	23,4*
Friedmann et al. [49]	51	2x100	15,8	35,9*
Powell et al. [114]	5	135	29,1	51,6*
Kotisaari et al. [67]	8	200	5,2	21,8
Zhu et al. [151]	20	45	14,3	36,9*
Fogelholm et al. [47]	14	100	14,0	26,0*

*Signifikante Unterschiede zwischen prä- und post-Werten

Der lösliche Transferrinrezeptor blieb im Rahmen der Substitution unverändert (prä 1,34; post 1,37 mg/l). Die Werte lagen vor und nach der Substitution im Referenzbereich von 0,83-1,76 mg/l. Dies ist ein weiterer Hinweis darauf, dass sich die untersuchten Sportler im Stadium I des Eisenmangels befanden. Da sich ca. 70-80% der Transferrinrezeptoren auf den erythropoetischen Vorläuferzellen des Knochenmarks befinden, sprechen unauffällige sTfR-Werte dafür, dass die Eisenversorgung der erythropoetischen Vorstufen im Knochenmark noch ausreichend ist. Während der Speicherentleerung bleibt der sTfR demnach relativ konstant, während hauptsächlich das Ferritin absinkt. Sobald ein zunehmender funktioneller Eisenmangel eintritt, steigt der sTfR progressiv an [86]. In vergleichbaren Studien von Suominen et al. [137], Brownlie et al. [1790], Hinton et al. [94] und Zhu et al. [151] wurde eine Verringerung des sTfR in Folge der Substitution beobachtet. In diesen Studien waren die Werte der Probanden vor der Eisentherapie allerdings erhöht. Die Reduktion des löslichen Transferrinrezeptors war umso deutlicher, je höher der jeweilige Ausgangswert war. Kotisaari et al. [67] beobachteten in ihrer Substitutionsstudie eine eher langsame

Reaktion des sTfR auf die verabreichte Eisenmedikation bei Patientinnen mit Eisenmangel und sprachen den Parametern daher einen limitierten Nutzen beim Monitoring einer Eisensubstitution aus.

Als Quotient aus sTfR und dem Logarithmus von Ferritin fiel der TfR-F-Index invers zu Ferritin ab. Vor Beginn der Eisentherapie lagen die Werte mit 1,53 deutlich über dem Referenzbereich (0,41-1,25) und zeigten einen bestehenden Speichereisenmangel an. Nach Ende der Therapie war der Index auf 1,01 gesunken und lag damit wieder im Normbereich. Da der sTfR unverändert blieb, kann davon ausgegangen werden, dass das Abfallen des Indizes ausschließlich auf den Anstieg des Ferritin zurückzuführen ist.

Der CHr zeigte in Folge der Eisensubstitution ebenfalls signifikante Veränderungen (prä 31,8 pg; post 34,1 pg). In der Literatur finden sich zwei Studien von Ashenden et al. [4, 5], in denen der CHr im Rahmen einer Eisensubstitution bei Sportlern gemessen wurde. Die zuerst publizierte Substitutionsstudie [4] wurde mit elf Basketballspielerinnen durchgeführt. Sechs der elf Probandinnen erhielten eine einmalige intravenöse Eiseninjektion (100 mg). Die übrigen fünf Probandinnen fungierten als Kontrollgruppe. Blutbildparameter inklusive Retikulozytenindizes und Eisenstoffwechselparameter wurden in den folgenden drei Wochen alle sieben Tage bestimmt. Es wurden keine Veränderungen bei den untersuchten Parametern und auch keine Unterschiede zwischen Untersuchungs- und Kontrollgruppe gefunden. Der CHr blieb konstant (prä $29,2 \pm 0,6$ post $29,4 \pm 0,5$ pg). Ashenden et al. schlussfolgerten, dass eine Eisensubstitution bei Sportlern mit niedrigem Ferritin, aber ohne klinische Zeichen eines Eisenmangels, keine positiven hämatologischen Auswirkungen hat. Eine Definition von „niedrigem Ferritin“ in Verbindung mit Eisenmangel wird in der Studie nicht angegeben. Die Eingangswerte bzgl. Ferritin lagen bei durchschnittlich 35,0 ng/ml. Nur eine Probandin hatte einen Ferritinwert von 9,0 ng/ml. Es kann vermutet werden, dass der überwiegende Anteil der Basketballerinnen keinen ausgeprägten Eisenspeichermangel hatte und der CHr deshalb unverändert blieb. Das Probandengut der vorliegenden eigenen Studie hatte vor Beginn der Substitution einen mittleren Ferritinwert von 8,0 ng/ml.

In einer weiteren Studie von Ashenden et al. erhielten fünf Netball-Spieler mit reduzierten Eisenspeichern (Ferritin $12,4 \pm 4,0$ ng/ml) über sieben Wochen eine orale Eisentherapie (105 mg pro Tag) [5]. Der CHr zeigte einen tendenziellen Anstieg von 28,9 auf 30,2 pg, welcher jedoch keine statistische Signifikanz erreichte. Ursächlich diskutiert wurde der relativ hohe CHr-Wert zu Beginn der Behandlung. Außerdem wurde vermutet, dass bei Sportlern der CHr einer der letzten Retikulozytenparameter

ist, der auf entleerte Eisenspeicher reagiert. Ashenden et al. nahmen deshalb an, dass die Eisensubstitution zu einem Zeitpunkt erfolgte, zu dem die Beeinträchtigung der Erythropoese noch nicht fortgeschritten war.

Das Ergebniss der vorliegenden eigenen Studie zeigt, dass der Speichereisenmangel der untersuchten Probanden deutlich ausgeprägt war. Das Verhalten des CHr könnte auf einen eintretenden funktionellen Eisenmangel schließen lassen, obwohl der sTfR zu diesem Zeitpunkt noch im Referenzbereich lag. Es lässt sich vermuten, dass das Ausmaß des funktionellen Eisenmangels zu diesem Zeitpunkt noch nicht kritisch genug war, um einen Anstieg des sTfR zu bewirken.

Der % HYPO zeigte dagegen keine Veränderungen. In der Literatur finden sich keine Studien, in denen der % HYPO im Rahmen einer Eisensubstitution bei Sportlern gemessen wurde. Bei Personen ohne Eisenmangel und im Stadium I liegt der Anteil von hypochromen Erythrozyten unter 2,5%. In der vorliegenden Studie lag der % HYPO vor Beginn der Substitution bei 0,2 %. Erst deutlich höhere Werte von > 6% [138] oder auch > 10% [35] gelten als beweisend für eine eisendefizitäre Erythropoese. Bei einer langanhaltenden eisendefizitären Erythropoese unter rHu-EPO-Therapie kann es sogar zu einem Anstieg der hypochromen Erythrozyten auf mehr als 50% kommen [126].

Auf Grund der Lebenszeit der Erythrozyten von 120 Tagen würde ein pathologischer % HYPO demnach einen schon länger bestehenden Eisenmangel während der Erythropoese anzeigen. Ein gerade eintretender funktioneller Eisenmangel wäre zu diesem Zeitpunkt noch nicht sichtbar. Dass der % HYPO demnach auch erst später auf eine Eisensubstitution reagiert, zeigte die bereits erwähnte Studie von Kotisaari et al. [67]. Hier wurden acht junge Frauen mit einer Eisenmangelanämie mit täglich 200 mg Eisen therapiert. Blutabnahmen erfolgten vor und bis zu vier Wochen nach Beginn der Substitution. Der % HYPO reagierte nur sehr langsam auf die Eisenmedikation, Normwerte wurden erst einen Monat nach Beginn der Substitution erreicht. In der Studie wurde neben dem CHr ein weiterer Retikulozytenparameter gefunden, der schnell die erhöhte Eisenverfügbarkeit während der Erythropoese widerspiegelt. Der prozentuale Anteil der hypochromen Retikulozyten (% HYPOr) verringerte sich von 60,0 % innerhalb von fünf bis sieben Tagen deutlich auf 20,8 %. Kotisaari et al. beurteilen deshalb den CHr und vor allem den % HYPOr als sehr wertvolle Parameter beim Monitoring der Wirksamkeit oraler Eisenmedikation.

Der prozentuale Anteil der hypochromen Retikulozyten fiel auch in der eigenen vorliegenden Studie durch eine hochsignifikante Veränderung in Folge der Substitution

auf. Er reduzierte sich von 1,1 auf 0,2 %, wobei dies innerhalb der ersten sieben Tage besonders deutlich war. Es lässt sich vermuten, dass diese Reduktion mit dem Anstieg des CHr korreliert. Der % HYPOr scheint daher auch bei Sportlern schnell und zuverlässig die Effektivität einer oralen Eisensubstitution nachzuweisen und könnte so neben dem CHr als früher Parameter im Monitoring Verwendung in der klinischen Praxis finden.

Generell sollte eine Eisensupplementierung nicht routinemäßig und nie ohne medizinische Betreuung durchgeführt werden [26, 130]. Eine übermäßige Eisenzufuhr erhöht das Risiko von negativen gesundheitlichen Effekten. Eine Medikation birgt u.a. das nicht unerhebliche Risiko, einen pathologischen Eisen-Overload zu entwickeln. Dieser kann zu schweren Organschäden führen. Eine flächendeckende Supplementierung mit Eisen muss daher klar abgelehnt werden [26, 130]. Prophylaktische Eisensupplementierungen sind auch aus leistungsdiagnostischer Sicht nicht sinnvoll [128].

Die Ergebnisse zeigen, dass der CHr als Parameter für das Monitoring während einer Eisensupplementation bei Ausdauersportlern herangezogen werden kann. Er zeigt schnell eine verbesserte Eisenverfügbarkeit während der Erythropoese an. Die Eigenschaft des % HYPO als Monitoringparameter kann im Rahmen dieser Studie nicht schlüssig beurteilt werden. Auf Grund des niedrigen Wertes vor Beginn der Substitution wird vermutet, dass bei den untersuchten Probanden keine ausgeprägte eisendefizitäre Erythropoese vorlag und % HYPO deshalb keine sichtbare Veränderung zeigte.

4.5 Beurteilung der diagnostischen Effizienz moderner Eisenstoffwechsellparameter im Ausdauersport

Der prozentuale Anteil der hypochromen Erythrozyten und der Hämoglobingehalt der Retikulozyten haben einen großen Stellenwert in der Diagnostik von Eisenmangelzuständen erlangt. Sie erlauben sowohl eine Beurteilung der aktuellen, als auch die auf einen längeren Zeitraum bezogene Balance zwischen Eisenbedarf und Eisenversorgung der Erythropoese. Die klinische Wertigkeit dieser beiden Parameter wurde in vielen Publikationen nachgewiesen [18, 21, 22, 45, 84, 140]. Das Probandenkollektiv dieser Autoren umfasste neben gesunden Probanden vor allem Hämolysepatienten und Patienten mit Anämien in Folge chronischer Erkrankungen. Ob diese Parameter auch für die Praxis bei der Diagnostik von Eisenmangel bei Ausdauersportlern genutzt werden können, wurde mit der vorliegenden Studie überprüft.

Hierfür wurde der Eisenhaushalt von 222 Ausdauersportlerinnen und -sportlern untersucht. An Hand der klassischen Eisenstoffwechsellparameter Ferritin, sTfR sowie dem TfR-F-Index wurden die Probanden hinsichtlich ihres Eisenstatus differenziert (siehe Tabelle 2). Demnach wiesen 47 Probanden einen Speichereisenmangel und weitere 44 eine eisendefizitäre Erythropoese auf. 131 Probanden zeigten keine Auffälligkeiten in ihrem Eisenstoffwechsel und wurden diesbezüglich als „gesund“ definiert.

Zur Überprüfung der diagnostischen Validität der neuen Parameter CHr und % HYPO wurden die Sensitivität und die Spezifität für jeweils verschiedene Cut-off-Werte untersucht (ROC-Analyse). Ziel war es, mit Hilfe der neuen Parameter die Zustände „gesund“ (unauffälliger Eisenstatus), „Speichereisenmangel“ und „eisendefizitäre Erythropoese“ voneinander abzugrenzen und einen entsprechenden Entscheidungswert (Cut-off) zu evaluieren.

Für die Diagnose eines Speichereisenmangels sind beide Parameter ungeeignet. Die „area under curve“ zeigte mit 0,528 (CHr) bzw. 0,540 (% HYPO) eine sehr schwache diagnostische Testgüte. Im Stadium I des Eisenmangels sind die Eisenspeicher verringert, die Erythropoese wird jedoch noch genügend mit Eisen versorgt. Der Hämoglobingehalt der Retikulozyten und die hypochromen Erythrozyten werden erst dann auffällig, wenn die Versorgung der erythropoetischen Vorstufen im Knochenmark nicht mehr ausreichend ist. Die höchste Sensitivität und Spezifität beider Parameter

ergab sich demnach bei der Differenzierung der Probanden mit unauffälligem Eisenstatus und denen mit einer eisendefizitären Erythropoese. Der CHr zeigte bei einem Cut-off von 31,4 pg die höchste Sensitivität (55,8 %) und Spezifität (78,9 %). Für den % HYPO lag der Cut-off bei $> 0,2 \%$ mit einer Sensitivität von 72,1 % und einer Spezifität von 93,0 %. In der Literatur finden sich nur wenige Studien, welche sich mit der diagnostischen Effizienz der beiden Parameter beschäftigt haben.

Der ermittelte Cut-off für den CHr liegt mit 31,4 pg deutlich oberhalb anderer publizierter Daten. Verschiedene Studien mit Normalpersonen und Hämodialysepatienten geben Cut-off-Werte zwischen 26,0 und 29,0 pg an. Wie bereits in der Arbeit von Ashenden et al. [5] beschrieben, kann auch hinsichtlich des vorliegenden Ergebnisses postuliert werden, dass die Menge an Hämoglobin in den Retikulozyten bei Trainierten größer zu sein scheint als bei Untrainierten. Diese Tatsache könnte die ungenügende Sensitivität und Spezifität des CHr bei der Diagnose eines Eisenmangels bei Ausdauersportlern begründen.

Tabelle 17: Vergleich unterschiedlicher Referenzbereiche bzw. Cut-offs für den CHr [pg] für die Diagnose einer eisendefizitären Erythropoese; Analysegeräte: * = Technicon H*3; # = ADVIA® 120 (Bayer Diagnostics)

Autor	n	Probandenkollektiv	CHr [pg] – Cut-off
Eigene Studie	222	Ausdauersportler	$< 31,4$ #
Ashenden et al. [5]	122	Athleten multipler Sportarten	Frauen $< 26,8$ * Männer $< 27,5$ *
Mast et al. [82]	34	Normalpersonen	$< 27,0$ #
Thomas et al. [141]	71	Normalpersonen	$< 28,0$ #
Fishbane et al. [45]	164	Hämodialysepatienten	$< 26,0$ *
Cullen et al. [31]	36	Hämodialysepatienten	$< 26,0$ *
Mittman et al. [91]	1.364	Hämodialysepatienten	$< 28,0$ *
Fishbane et al. [46]	157	Hämodialysepatienten	$< 29,0$ #

Tabelle 17 zeigt die sehr unterschiedlichen Empfehlungen der vorliegenden Literatur für den Cut-off des CHr. Auch hier können die Unterschiede auf eine nicht einheitliche Methodik zurückgeführt werden. Zum einen wurden verschiedene Probandenkollektive

(Normalpersonen, Hämodialysepatienten u.a. auch unter r-HuEPO-Therapie, Sportler verschiedener Sportarten) mit stark unterschiedlichen Fallzahlen untersucht. Zum anderen wird deutlich, dass Messunterschiede, wie bereits beschrieben, durch die Verwendung unterschiedlicher Hämatologieanalysegeräte bedingt sein können. Auch die unterschiedlichen Angaben von Fishbane et al. [45, 46] bei Untersuchungen an Hämodialysepatienten mit dem Technicon H*3 bzw. dem ADVIA® 120 lassen diese Vermutung zu. Darüber hinaus werden auch Einflüsse anderer Parameter diskutiert. So untersuchten Mast et al. [82] den klinischen Nutzen des CHr für die Diagnose eines Eisenmangels bei Patienten mit Erkrankungen der Erythropoese („hämatologic disorders“). Hierbei wurden die Ergebnisse einer Knochenmarkbiopsie mit Klassifizierung bzgl. eines Eisenmangels dem CHr von Patienten gegenübergestellt. Sie schlussfolgerten, dass die diagnostische Wertigkeit des CHr bei einem zu hohen mittleren korpuskulären Erythrozytenvolumen ($MCV > 100 \text{ fl}$) oder bei Störungen der Erythropoese limitiert ist. Im Fall der vorliegenden Studie ist ein zu hohes MCV jedoch auszuschließen, da ein Eisenmangel im Endstadium eine mikrozytäre Anämie verursacht, welche wiederum durch ein niedriges MCV gekennzeichnet ist.

Im Vergleich mit den klassischen Eisenstoffwechselfparametern zeigt der CHr in vielen Studien eine höhere diagnostische Effizienz. Mast et al. [84] führten bei 34 Medizinstudenten eine Knochenmarkspunktion sowie eine zeitnahe Blutabnahme durch und verglichen die ROC-Kurven für Ferritin, Transferrinsättigung und dem CHr. Mit einer Sensitivität von 73,9 % und einer Spezifität von 73,3 % zeigte der CHr die höchste Testgüte. Die im Rahmen solcher Studien eher selten durchgeführte Methode der Knochenmarkpunktion gilt als klassischer Goldstandard der Eisenstoffwechseldiagnostik. Eine hohe Übereinstimmung zu den Ergebnissen dieser Studie findet sich auch bei Fishbane et al. [4593]. Demnach liegt bei Hämodialysepatienten die Spezifität mit 100 % und die Sensitivität mit 80 % für CHr deutlich oberhalb der von Ferritin (Sensitivität von 60 % und Spezifität von 71,4 % für Werte $< 100 \text{ ng/ml}$). Cullen et al. publizieren einen Cut-off von 26,0 pg mit ebenfalls hoher Testgüte (Sensitivität 100 %, Spezifität 73 %) für chronische Hämodialysepatienten. Insbesondere in Kombinationen mit dem prozentualen Anteil der hypochromen Erythrozyten ist zumindest für Patienten und Normalkollektive eine mit dem derzeit aussagekräftigsten Parameter - dem TfR-F-Index als Parameter für das Gesamtkörper-Eisen - vergleichbare hohe diagnostische Effizienz erreichbar [46, 133]. Zudem wies der CHr eine deutlich geringere Variation (Variationskoeffizient von 3 %) gegenüber dem Serumferritin auf (Variationskoeffizient bis zu 25 %).

Die in der vorliegenden Studie ermittelte Sensitivität von 55,8 % bzw. Spezifität von 78,9 % weist jedoch darauf hin, dass der CHr im Sport im Gegensatz zum Einsatz bei klinischen Fragestellungen allenfalls nur ein ergänzender Parameter in der Diagnostik eines Eisenmangels sein kann.

Für den % HYPO liegt der Cut-off mit der höchsten diagnostischen Effizienz bei > 0,2 % und damit deutlich unterhalb der in der vorliegenden Literatur publizierten Werte (Tabelle 18). Mit diesem Cut-off konnten die Zustände „gesund“ vs. „eisendefizitäre Erythropoese“ am besten voneinander abgegrenzt werden, so dass in diesem Fall der % HYPO bei Ausdauersportlern eine höhere diagnostische Effizienz als der CHr erreichte. Vergleichbare Resultate fanden Bovy et al. [15] bei Hämodialysepatienten, auch hier zeigte der % HYPO eine höhere diagnostische Effizienz (Cut-off von > 6%, Sensitivität 91,7 % und Spezifität von 75,0 %) als der CHr.

Tabelle 18: Vergleich unterschiedlicher Referenzbereiche bzw. Cut-offs für den % HYPO für die Diagnose einer eisendefizitären Erythropoese; Analysegeräte: * = Technicon H*3; # = ADVIA® 120 (Bayer Diagnostics)

Autor	n	Probandenkollektiv	% HYPO – Cut-off
Eigene Studie	222	Ausdauersportler	> 0,2 % #
Tessitore et al. [138]	125	Hämodialysepatienten	> 6 % #
Bovy et al. [15]	32	Hämodialysepatienten	> 6 % #
Cullen et al. [31]	36	Hämodialysepatienten	> 2,5 % *

Im direkten Vergleich mit anderen Eisenstoffwechselfparametern (CHr, Transferrin-sättigung, Ferritin, sTfR) ging auch bei Tessitore et al. [138] der % HYPO als bester Parameter hervor.

Für die Subpopulation von Sportlern wurden keine vergleichbaren Studien gefunden. Die Evaluation eines geeigneten Cut-off erfolgte bislang ausschließlich bei mit rHu-EPO-substituierten Dialysepatienten. Dort gilt die Bestimmung der hypochromen Erythrozyten als bester Parameter zur Erfassung einer eisendefizitären Erythropoese.

Im Vergleich zu anderen Studien (Tessitore et al., Bovy et al.) ist der Cut-off in der vorliegenden Studie eher niedrig. Die Vergleichsstudien wurden an klinischen Patienten durchgeführt, dagegen wurden in der vorliegenden Studie klinisch gesunde Probanden

ausgewählt. Ein Selektionsbias ist daher nicht auszuschließen. Die Probandenselektion kann demnach ein Grund für die unterschiedlichen Cut-offs sein.

Mit dem Hämatologieanalyser ADVIA® 120 konnten weitere, noch nicht in der Praxis verwendete, Parameter analysiert werden (Übersicht der Parameter siehe Tabelle A 2). Untern ihnen befanden sich Blutbildparameter mit hoher Testgüte ($AUC > 0,8$) für die Diagnose einer eisendefizitären Erythropoese. Die höchste Testgüte erreichte die Anzahl hypochromer normozytärer Retikulozyten mit einer AUC von 0,888. Als retikulozytärer Parameter ist er ebenfalls ein direkter Marker, welcher einen akuten Eisenmangel während der Hämoglobinisierung im Knochenmark widerspiegelt. In der Literatur wurden zwei vergleichbare Publikationen gefunden, in denen ebenfalls verschiedene Retikulozytenindizes auf ihre diagnostische Wertigkeit überprüft wurden. Kotisaari et al. [68] fanden dabei einen auffallend hohen AUC-Wert (0,98) für den prozentualen Anteil der hypochromen Retikulozyten (% HYPOr). Dieser wird als besonders schneller Parameter im Monitoring einer Eisentherapie gewertet. In einer weiteren Studie mit 202 schwangeren Frauen erreicht der % HYPOr mit 0,80 die größte AUC [40].

Zusammenfassend kann konstatiert werden, dass diese direkten Vorläufer der hypochromen Erythrozyten (% HYPOr bzw. die Anzahl hypochromer normozytärer Retikulozyten) auch bei sportlich trainierten Personen adäquate Entscheidungsparameter zur Abschätzung des Eisenstatus zu sein scheinen. Um diese Vermutung zu bestätigen, müssen jedoch weitere Studien folgen.

Im weiteren Verlauf der Studie wurde geprüft, ob alternativ die Kombination verschiedener Parameter für eine Differentialdiagnose hinsichtlich verschiedener Diagnosen, u.a. einer eisendefizitären Erythropoese herangezogen werden können. Während mit der ROC-Analyse die potentiellen diagnostischen Parameter CHr und % HYPO einzeln betrachtet wurden, kann man mit verschiedenen Klassifikationsmodellen die Kombination verschiedener Parameter nutzen, um die Datenmenge adäquat zu klassifizieren. Ziel war es, die Probanden mit unauffälligem Eisenstatus bzw. einer eisendefizitären Erythropoese (IDE) mit Hilfe einer Kombination mehrerer Parameter bestmöglich voneinander abzugrenzen. Mit dem ADVIA® 120 wurden insgesamt 102 Blutparameter je Proband gemessen. Diese Datensätze wurden für Männer und Frauen getrennt betrachtet. Mit einem ersten Testverfahren (SVM) konnten die Datensätze so klassifiziert werden, dass 75,6 % der weiblichen und 75 % der männlichen Probanden korrekt als „gesund“ bzw. „IDE“ eingestuft wurden. Diejenigen Parameter, die für diese Klassifizierung die höchste Gewichtung einnahmen,

wurden dann im zweiten Schritt für die Entwicklung eines binären Entscheidungsbaumes herangezogen. Mit diesem Entscheidungsbaum konnten 86,6 % der weiblichen und 75 % der männlichen Probanden korrekt klassifiziert werden. Der in der Reihenfolge erste und damit gewichtigste Entscheidungsparameter bei den Männern war der prozentuale Anteil hypochromer, normozytärer Retikulozyten. Je nachdem, ob dieser Parameter größer oder kleiner 1,6 war, wurden nachfolgend der mittlere korpuskuläre Hämoglobingehalt (MCV) bzw. die Anzahl hypochromer Erythrozyten als weitere Entscheidungsparameter herangezogen. Bei den Frauen war der in der Reihenfolge höchste und damit gewichtigste Entscheidungsparameter das Verhältnis des MCVr (mittleres korpuskuläres Volumen der Retikulozyten) zum MCV (mittleres korpuskuläres Volumen der reifen erythrozytären Zellen). Im weiteren Entscheidungsverlauf war die Anzahl hypochromer Retikulozyten richtungsweisend für eine mögliche Diagnose.

Gleiche Testverfahren wurden mit dem Ziel eines besseren Ergebnisses ausschließlich mit den Parametern durchgeführt, die nach der ROC-Analyse (Tabelle 14) die höchste Testgüte aufwiesen. Hier konnte jedoch kein besseres Ergebnis erzielt werden.

Die in Kapitel 3.5.2 skizzierten Entscheidungsbäume können nicht bzw. nur schwer für die klinische Praxis genutzt werden, da zu viele Parameter in die Entscheidungsfindung eingehen und diese noch nicht ausreichend untersucht sind. Auffallend war jedoch auch hier, dass der prozentuale Anteil der hypochromen Retikulozyten in allen Entscheidungsbäumen eine „Entscheidungsrolle“ einnahm.

Die diagnostische Validität des CHr und des % HYPO kann in dieser Arbeit nicht abschließend beurteilt werden. Die höchste Sensitivität und Spezifität beider Parameter ergab sich bei der Diagnose einer eisendefizitären Erythropoese. Demnach wird insbesondere der prozentuale Anteil hypochromer Erythrozyten erst auffällig, wenn die Versorgung der erythropoetischen Vorstufen im Knochenmark nicht mehr ausreichend ist. Es ist anzunehmen, dass der überwiegende Teil der untersuchten Probanden einen unauffälligen Eisenstatus hatte bzw. sich im Stadium I des Eisenmangels befanden.

Zusammenfassend lässt sich schlussfolgern, dass der CHr sowie weitere Retikulozytenindizes, z.B. der Anteil der hypochromen Retikulozyten, zuverlässige Parameter der Erythropoese bei Ausdauersportlern sind. Der Eisenstatus kann durch die alleinige Bestimmung des CHr jedoch nicht exakt ermittelt werden. In der vorliegenden Studie wies er keine signifikanten linearen Zusammenhänge mit anderen Parametern des Eisenstoffwechsels, wie Ferritin, sTfR oder TfR-F-Index auf. Als

Indikator des Eisenbedarfs der Erythropoese kann der CHr jedoch zur Differentialdiagnostik bei gleichzeitig bestehenden normalen Werten für die Eisenspeicher beitragen. Außerdem kann der CHr sowie weitere Retikulozyten-Indizes bei grenzwertig niedrigen bzw. erniedrigten Ferritinkonzentrationen helfen, eine bei Ausdauersportlern per se auftretende „Pseudoanämie“ auf Grund einer überproportionalen Plasmavolumenvermehrung von einer (beginnenden) Eisenmangelanämie abgrenzen.

Zum Zeitpunkt der Untersuchung befand sich keiner der Ausdauersportler im Stadium III und nur sehr wenige im Stadium II des Eisenmangels. U.a. könnte dies der Grund für eine unzureichende Validitätsprüfung sein. Die diagnostische Validität der Eisenstoffwechselparameter CHr und % HYPO müsste daher bei Ausdauersportlern mit einem fortgeschrittenen Eisenmangel in weiteren Studien geprüft werden.

4.6 Methodenkritik

Ergänzend zu den bereits erfolgten methodenkritischen Betrachtungen innerhalb der Diskussion, sind in der Bewertung der Ergebnisse dieser Arbeit noch weitere Aspekte zu berücksichtigen.

Die Reproduzierbarkeit der Eisenstoffwechselfparameter Ferritin, sTfR, CHr und % HYPO wurde durch die Angaben der jeweiligen Variationskoeffizienten seitens des Labors belegt (siehe Kapitel 2.3). Individuelle Schwankungen der Parameter bei den Ausdauersportlern in der vorliegenden Studie können deshalb nicht ausgeschlossen werden.

Des Weiteren muss die Vorannahme für die ROC-Analyse kritisch betrachtet werden. Die Grundlage der Analyse stellte die Diagnose eines Eisenmagels bei den Probanden dar. Der Goldstandard zur Definition eines Eisenmangels ist u.a. die Ferritinbestimmung. Mit Ferritin geht somit ein diagnostischer Parameter in die Validitätsprüfung ein, der gerade im Bereich körperlich aktiver Personen nicht unbedingt den Goldstandard der Eisenstoffwechseldiagnostik darstellt. Der Goldstandard weist in dem Fall selbst nur eine eingeschränkte diagnostische Güte auf. Weil sich eine invasive Diagnostik zur Eisenspeicherreserve (Berliner-Blau-Färbung des Knochenmarkpunkts) bzw. Applikation von radioaktiven Eisen ethisch bei primär Gesunden nicht begründen lässt, muss diese Einschränkung bei der Validitätsprüfung akzeptiert werden. Wenn kein „echter Goldstandard“ zur Verfügung steht, kann die Sensitivität und Spezifität nicht absolut angegeben, sondern nur abgeschätzt werden.

In folgenden Studien mit Ausdauersportlern könnte bei normalen, respektive erhöhten Ferritinwerten ein zusätzlicher Test auf das C-reaktive Protein zumindest entzündliche Prozesse, die den Ferritinwert beeinflussen, identifizieren und damit falsch normale bzw. falsch erhöhte Ferritinwerte ausschließen.

5 Zusammenfassung

Problemstellung

Eisen ist ein essentielles Spurenelement für den menschlichen Körper und spielt darüber hinaus eine entscheidende Rolle für die sportliche Leistungsfähigkeit. Ein vielfach beschriebenes Problem, insbesondere im Ausdauersport, ist die Entwicklung eines Eisenmangels und nachfolgend einer Anämie. Bei einer sportmedizinischen Untersuchung ist deshalb die regelmäßige Bestimmung des Eisenstatus, vor allem bei Ausdauersportlern, indiziert. In vielen klinischen Situationen, so auch im Rahmen hoher sportlicher Belastungen, sind die klassischen biochemischen Indizes, wie Serumeisen, Transferrinsättigung und Ferritin nur bedingt suffizient für die Eisenmangeldiagnostik. Die Parameter sind teilweise wenig informativ und verändern sich nicht schnell genug, um vorübergehende Eisendefizite anzuzeigen. In der vorliegenden Arbeit wurde die im Sport bislang kaum erforschte klinische Relevanz des Hämoglobingehalts der Retikulozyten (CHr) und des prozentualen Anteils hypochromer Erythrozyten (%HYPO) im Rahmen der Eisenmangeldiagnostik untersucht. Beide Parameter haben einen großen Stellenwert in der Diagnostik von Eisenmangelzuständen, vor allem bei Hämodialysepatienten, erlangt. Sie erlauben sowohl eine Beurteilung der aktuellen als auch die auf einen längeren Zeitraum bezogene Balance zwischen Eisenbedarf und Eisenversorgung der Erythropoese. Für das Monitoring der oralen Eisentherapie von Patienten mit einer Eisenmangelanämie gelten sie ebenfalls als schnellste und sensitivste Marker. Die klinische Wertigkeit dieser beiden Parameter wurde in vielen Publikationen nachgewiesen.

Bei Ausdauersportlern könnte eine differenzierte und aktuelle Eisenmangel- und Anämiediagnostik einen eintretenden Eisenmangel erfassen, noch bevor eine Leistungsminderung eintritt. Zudem wären eine adäquate Therapie und deren optimale Überwachung möglich.

Im Rahmen dieser Studie wurde untersucht, ob die Parameter auch während und nach intensiven Trainingseinheiten stabil bleiben und somit eine suffiziente Eisenmangeldiagnostik zulassen. Neben der Ermittlung spezifischer Referenzwerte wurde die Validität für die Diagnose eines Eisenmangels bei Ausdauersportlern geprüft. Darüber hinaus wurde bewertet, inwieweit die Parameter ein sensibles Monitoring einer Eisensupplementation zulassen. Außerdem wurde das Verhalten von Hepcidin untersucht. Das Peptidhormon regelt die Eisenresorption sowie die Eisenfreisetzung.

Mögliche Veränderungen in Folge sportlicher Belastungen lassen einen neuen Regelmechanismus des Eisenmangels bei Ausdauersportlern vermuten.

Kurzbeschreibung der Studie

Bei insgesamt 222 Ausdauersportlern wurden Untersuchungen zum Eisenhaushalt durchgeführt. Bei allen Probanden erfolgte eine einmalige Ruheblutabnahme. Darüber hinaus wurden auf Grund differenter Fragestellungen kleinere Probandengruppen zusammengestellt, bei denen weitere Untersuchungen vorgenommen wurden.

Für die allgemeine Darstellung von Blutbild- und Eisenstoffwechselfparametern wurden 131 der 222 Ruheblutentnahmen von männlichen und weiblichen Ausdauersportlern herangezogen, die keine Auffälligkeiten in Bezug auf ihren Eisenstatus zeigten. Ein weiterer Untersuchungsblock umfasste die gezielte Veränderung präanalytischer Einflussfaktoren auf die neuen Parameter der Eisenstoffwechseldiagnostik. Dafür wurden 30 Ausdauersportler aus den Sportarten Schwimmen, Laufen und Radfahren zusätzlich sportartspezifisch bei verschiedenen Intensitäten (regenerativ, intensiv, extensiv) belastet. Außerdem wurden Veränderungen der Parameter in Folge eines Marathons bei 75 Läuferinnen und Läufern dokumentiert. In einem weiteren Studienabschnitt wurden Blutbild- und Eisenstoffwechselfparameter von 10 Probanden mit Eisenmangel unter medikamentöser Eisentherapie beobachtet und ausgewertet. Für die Beurteilung der diagnostischen Effizienz moderner Eisenstoffwechselfparameter und zur Erstellung spezifischer Referenzwerte für Ausdauersportler wurden die Ruheblutentnahmen des Gesamtkollektives herangezogen.

Zusammenfassung der Ergebnisse

Für die Subpopulation von Ausdauersportlern wurden folgende Referenzbereiche ermittelt: CHr = 28,8-35,9 pg und % HYPO = 0-0,5 %.

Beide Eisenstoffwechselfparameter blieben nach regenerativen, extensiven und intensiven sportlichen Belastungen in verschiedenen Ausdauersportarten sowie nach einem Marathonlauf stabil. Auch bei der Pro-Hepcidin-Konzentration wurde zwischen den verschiedenen Belastungsintensitäten kein Unterschied gefunden. Läufer wiesen jedoch gegenüber Schwimmern und Radsportlern signifikant höhere Konzentrationen in Ruhe auf.

Während einer 7-wöchigen Eisensubstitution stieg der CHr an und spiegelte somit eine erhöhte Eisenverfügbarkeit während der Erythropoese wider. Der % HYPO zeigte keine Veränderung in Folge der Substitution. Auf Grund der niedrigen Ausgangswerte wird

vermutet, dass bei den untersuchten Patienten noch keine längerfristig eingeschränkte Erythropoese bestand. Auffällig war darüber hinaus der prozentuale Anteil der hypochromen Retikulozyten (% HYPOr) durch eine hochsignifikante Veränderung in Folge der Substitution.

Die Validitätsprüfung für die Diagnose eines Speichereisenmangels ergab eine sehr schwache Testgüte für beide Parameter. Für die Abgrenzung einer eisendefizitären Erythropoese ist der % HYPO besser geeignet (Sensitivität: 72,1 %; Spezifität 93,0 % Cut-off > 0,2 %). Der CHr zeigte bei einem Cut-off von 31,4 pg die höchste Sensitivität (55,8 %) und Spezifität (78,9 %). Die höchste Testgüte erreichte die Anzahl hypochromer Retikulozyten mit einer AUC von 0,89. Als retikulozytärer Parameter ist er ebenfalls ein direkter Marker, welcher einen akuten Eisenmangel während der Hämoglobinisation im Knochenmark widerspiegelt.

Schlussfolgerungen und Ausblick

Der CHr und der % HYPO werden als stabile Blutparameter für die Subpopulation von Ausdauersportlern bewertet. Nach regenerativen, extensiven sowie intensiven Ausdauerbelastungen bleiben sie konstant und zeigen somit unbeeinflusst von der (Ausdauer-)Sportart als auch von der Belastungsdauer und -intensität die aktuelle Eisenversorgung der Erythropoese im Knochenmark an.

Für das Monitoring einer Eisensubstitution sind der CHr sowie der % HYPOr sensible Parameter. Mit ihnen lässt sich schnell und zuverlässig die Effektivität einer oralen Eisensubstitution nachweisen. Neben dem CHr könnte der % HYPOr als früher Parameter im Monitoring Verwendung in der klinischen Praxis finden. Dies muss in weiteren Studien geprüft werden.

Für die Diagnose eines Speichereisenmangels sind der Hämoglobingehalt der Retikulozyten und der Anteil der hypochromen Erythrozyten ungeeignet. Beide Parameter werden erst dann auffällig, wenn die Versorgung der erythropoetischen Vorstufen im Knochenmark nicht mehr ausreichend ist. Sie können daher gegebenenfalls zur Abgrenzung von Probanden mit unauffälligem Eisenstatus und denen mit einer eisendefizitären Erythropoese beitragen. Der Eisenstatus kann deshalb durch die alleinige Bestimmung des CHr bzw. des % HYPO nicht exakt ermittelt werden. Im Gegensatz zum Einsatz bei klinischen Fragestellungen können sie zu diesem Zeitpunkt im Sport allenfalls nur ein ergänzender Parameter in der Differentialdiagnostik eines Eisenmangels sein. Der CHr sowie weitere Retikulozytenindizes können bei grenzwertig niedrigen bzw. erniedrigten Ferritinkonzentrationen

jedoch helfen, eine bei Ausdauersportlern per se auftretende „Pseudoanämie“ auf Grund einer überproportionalen Plasmavolumenvermehrung von einer (beginnenden) Eisenmangelanämie abzugrenzen. Für den % HYPO wird vermutet, dass erst deutlich höhere Werte Beweis für eine eisendefizitäre Erythropoese sind und seine diagnostische Effizienz erst bei fortgeschrittenem Eisenmangel nachweisbar ist.

Die in dieser Studie ermittelten Referenzwerte für Ausdauersportler dienen als erste Orientierung, welche in Vergleichsstudien bestätigt werden müssen.

Die Ergebnisse zur Untersuchung des Pro-Hepcidin zeigen, dass zusätzlich zu den bereits gut erforschten Mechanismen des Eisenverlusts auch die entzündungsbedingte Zunahme des Eisen-regulierenden Hormons Hepcidin einen Einfluss auf den Eisenstatus von Ausdauersportlern haben kann. So wäre es denkbar, dass eine andauernd hohe Hepcidinkonzentration zur Entwicklung von Eisenmangelzuständen, auf Grund der inhibitorischen Wirkung von Hepcidin auf die intestinale Eisenabsorption sowie auf die Freisetzung von Eisen aus den Makrophagen, führt. Die Entwicklung von Hepcidinanalogen könnte daher in Zukunft therapeutische Anwendungen finden. Im Bereich des (Ausdauer-)Sports wäre zudem die Ermittlung einer „Schwellenbelastung“, die zum Hepcidinanstieg führt, sinnvoll.

Literaturverzeichnis

- 1 **Akesson A, Bjellerup P, Berglund M, Bremme K, Vahter M.** Serum transferrin receptor: a specific marker of iron deficiency in pregnancy. *Am. J. Clin. Nutr.* 1998; 68: 1241-6.
- 2 **Andrews NC, Levy JE.** Iron Is Hot: An Update on the Pathophysiology of Hemochromatosis. *Blood* 1998; 15: 1845-51.
- 3 **Anttila R, Cook JD, Siimes MA.** Body iron stores decrease in boys during pubertal development: the transferrin receptor-ferritin ratio as an indicator of iron status. *Pediatr Res.* 1997; 41(2): 224-8.
- 4 **Ashenden MJ, Fricker PA, Ryan RK, Morrison NK, Dobson GP, Hahn AG.** The haematological response to an iron injection amongst female athletes. *Int J Sports Med.* 1998; 19(7): 474-8.
- 5 **Ashenden MJ, Pyne DB, Parisoto R, Dobson GP, Hahn AG.** Can reticulocyte parameters be of use in detecting iron deficient erythropoiesis in femal athletes? *J sports med phys fitness* 1999; 39:140-6.
- 6 **Banfi G, Roi GS, Dolci A, Susta D.** Behaviour of haematological parameters in athletes performing marathons and ultramarathons in altitude ('skyrunners'). *Clin Lab Haematol.* 2004; 26(6): 373-7.
- 7 **Bayer Vital GmbH – Diagnostics.** Informationsmaterial. Siemensstraße 3, Fernwald, Deutschland.
- 8 **Baynes RD.** Assessment of iron status. *Clin Biochem.* 1996; 29(3): 209-15.
- 9 **Bärtsch P, Friedmann B, Mairbäurl H.** Pseudoanämie durch Sport. *Therapeutische Umschau* 1998; 55: 251-255.
- 10 **Beard JL.** Iron biology in immune function, muscle metabolism and neuronal functioning. *J. Nutr.* 2001; 131: 568S-580S.
- 11 **Beard JL, Tobin B.** Iron and exercise. *AM J Clin Nutr* 2000; 72: 594-7.
- 12 **Beguin Y.** Soluble transferrin receptor for the evaluation of erythropoiesis and iron status. *Clin Chim Acta* 2003; 329: 9-22.

- 13 **Bhandari S, Norfolk D, Brownjohn A, Turney J.** Evaluation of RBC ferritin and reticulocyte measurements in monitoring response to intravenous iron therapy. *Am J Kidney Dis.* 1997; 30(6): 814-21.
- 14 **Bortz J.** Statistik für Sozialwissenschaftler. Springer-Verlag, Berlin, 1999.
- 15 **Bovy C, Gothot A, Delanaye P, Warling X, Krzesinski JM, Beguin Y.** Mature erythrocyte parameters as new markers of functional iron deficiency in haemodialysis: sensitivity and specificity. *Nephrol Dial Transplant.* 2007; 22(4): 1156-62.
- 16 **Brechtel L, Wolff R, Brachmann S, Lock J, Heepe W, Hoff E, Röcker L.** Neue Indikatoren des Eisenstoffwechsels bei Marathon-Läuferinnen. *Dt Z Sportmed* 2003, 54:7-8.
- 17 **Brownlie T, Utermohlen V, Hinton PS, Giordano C, Haas JD.** Marginal iron deficiency without anemia impairs aerobic adaptation among previously untrained women. *Am. J. Clin. Nutr.* 2002; 75: 734-42.
- 18 **Brugnara C.** Reticulocyte cellular indices: A new approach in the diagnosis of anemias and monitoring of erythropoietic function. *Critical reviews in clinical laboratory sciences* 2000; 37: 93-130.
- 19 **Brugnara C.** Use of reticulocyte cellular indices in the diagnosis and treatment of hematological disorders. *Int J Clin Lab Res* 1998; 28: 1-11.
- 20 **Brugnara C, Colella GM, Cremins J, Langley RC Jr, Schneider TJ, Rutherford CJ, Goldberg MA.** Effects of subcutaneous recombinant human erythropoietin in normal subjects: development of decreased reticulocyte hemoglobin content and iron-deficient erythropoiesis. *J Lab Clin Med.* 1994; 123(5): 660-7.
- 21 **Brugnara C, Laufer MR, Friedman AJ, Bridges K, Platt O.** Reticulocyte hemoglobin content (CHr): early indicator of iron deficiency and response to therapy. *Blood.* 1994; 83(10): 3100-1.
- 22 **Brugnara C, Zurakowski D, DiCanzio J, Boyd T, Platt O.** Reticulocyte hemoglobin content to diagnose iron deficiency in children. *JAMA* 1999; 281: 2225-2230.
- 23 **Brun JF, Bouchahda C, Chaze D, Benhaddad AA, Micallef JP, Mercier J.** The paradox of hematocrit in exercise physiology: which is the "normal" range

- from an hemorheologist's viewpoint? Clin Hemorheol Microcirc. 2000; 22(4): 287-303.
- 24 **Carpenter CE, Mahoney AW.** Contributions of heme and nonheme iron to human nutrition. Crit Rev Food Sci Nutr. 1992; 31 (4): 333-67.
- 25 **Cavill I.** Erythropoiesis and iron. Best practice and research. Clin Haematol 2002; 15: 399-409.
- 26 **Chatard JC, Mujika I, Guy C, Lacour JR.** Anaemia and iron deficiency in athletes. Practical recommendations for treatment. Sports Med. 1999; 27(4): 229-40.
- 27 **Chuang CL, Liu RS, Wei YH, Huang TP, Tarng DC.** Early prediction of response to intravenous iron supplementation by reticulocyte haemoglobin content and high-fluorescence reticulocyte count in haemodialysis patients. Nephrol Dial Transplant. 2003; 18(2): 370-7.
- 28 **Clarkson PM, Haymes EM.** Exercise and mineral status of athletes: calcium, magnesium, phosphorus, and iron. Med Sci Sports Exerc. 1995; 27(6): 831-43.
- 29 **Cook JD.** Clinical evaluation of iron deficiency. Semin. Hematol. 1982; 19: 6-18.
- 30 **Cook JD.** The effect of endurance training on iron metabolism. Semin Hematol. 1994; 31(2): 146-54.
- 31 **Cullen P, Soffker J, Hopfl M, Schlaghecken R, Mehrens T, Assmann G, Schäfer RM.** Hypochromic red cells and reticulocyte haemoglobin content as marker of iron-deficient erythropoiesis in patients undergoing chronic haemodialysis. Nephrol Dial Transplant. 1999; 33: 659-65.
- 32 **Conrad ME, Umbreit JN.** Iron absorption and transport-an update. Am J Hematol. 2000; 64 (4): 287-98.
- 33 **DeRuisseau KC, Chevront SN, Haymes EM, Sharp RG.** Sweat iron and zinc losses during prolonged exercise. Int J Sport Nutr Exerc Metab. 2002; 12(4): 428-37.

-
- 34 **Di Santolo M, Stel G, Banfi G, Gonano F, Cauci S.** Anemia and iron status in young fertile non-professional female athletes. *Eur J Appl Physiol.* 2008; 102(6): 703-9.
- 35 **DGHO.** Leitlinien: Empfehlungen der DGHO für die Diagnostik und Therapie hämatologischer und onkologischer Erkrankungen - Eisenmangel und Eisenmangelanämie. 2007.
- 36 **d’Onofrio G, Chirollo R; Zini G, Caenaro G, Tommasi M, Miccuilli G.** Simultaneous measurement of retikulozyte and red blood cell indices in healthy subjects and patients with microcytic and macrocytic anemia. *Blood* 1995; 85: 818-823.
- 37 **DRG Instruments GmbH.** Hepcidin Prohormone ELISA. User Manual. 2005.
- 38 **Dubnov G, Constantini NW.** Prevalence of iron depletion and anemia in top-level basketball players. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2004; 14(1): 30-7.
- 39 **Duca L, Da Ponte A, Cozzi M, Carbone A, Pomati M, Nava I, Cappellini MD, Fiorelli G.** Changes in erythropoiesis, iron metabolism and oxidative stress after half-marathon. *Intern Emerg Med.* 2006; 1(1): 30-4.
- 40 **Ervasti M, Kotisaari S, Heinonen S, Punnonen K.** Use of advanced red blood cell and reticulocyte indices improves the accuracy in diagnosing iron deficiency in pregnant women at term. *Eur J Haematol.* 2007; 79(6):539-45.
- 41 **Fallon KE.** The acute phase response and exercise: the ultramarathon as prototype exercise. *Clin J Sport Med.* 2001; 11(1): 38-43.
- 42 **Fallon KE, Bishop G.** Changes in erythropoiesis assessed by reticulocyte parameters during ultralong distance running. *Clin J Sport Med.* 2002; 12(3): 172-8.
- 43 **Fischer CP.** Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance? *Exerc Immunol Rev.* 2006; 12:6-33.
- 44 **Fischer CP, Hiscock NJ, Penkowa M, Basu S, Vessby B, Kallner A, Sjöberg LB, Pedersen BK.** Supplementation with vitamins C and E inhibits the release of interleukin-6 from contracting human skeletal muscle. *J Physiol.* 2004; 558(2): 633-45.

-
- 45 **Fishbane S, Galgano C, Langley RC, Canfield W, Maesaka JK.** Retikuloocyte hemoglobin content in the evaluation of iron status in hemodialysis patients. *Kidney International* 1997; 52: 217-222.
- 46 **Fishbane S, Shapiro W, Dutka P, Valenzuela OF, Faubert J.** A randomized trial of iron deficiency testing strategies in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2001; 60:2406-11.
- 47 **Fogelholm M, Jaakkola L, Lampisjarvi T.** Effects of iron supplementation in female athletes with low serum ferritin concentration. *Int. J. Sports. Med.* 1992; 13: 158-62.
- 48 **Friedmann B.** Sportleranämie. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin* 2001; 52: 262-263.
- 49 **Friedmann B, Weller E, Mairbaurl H, Bärtsch P.** Effects of iron repletion on blood volume and performance capacity in young athletes. *Med Sci Sports Exerc.* 2001; 33(5): 741-6.
- 50 **Fusaro M, Munaretto G, Spinello M, Rebeschini M, Amici G, Gallieni M, Piccoli A.** Soluble transferrin receptors and reticuloocyte hemoglobin concentration in the assessment of iron deficiency in hemodialysis patients. *J Nephrol.* 2005; 18(1): 72-9.
- 51 **Ganz T.** Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003; 102(3): 783-8.
- 52 **Ganz T.** Hepcidin -a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2005 ; 18(2): 171-82.
- 53 **Gropper SS, Bader-Crowe DM, McAnulty LS, White BD, Keith RE.** Non-anemic iron depletion, oral iron supplementation and indices of copper status in college-aged females. *J Am Coll Nutr.* 2002; 21(6): 545-52.
- 54 **Haas JD, Brownlie T.** Iron deficiency and reduced work capacity. a critical review of the research to determine a causal relationship. *J. Nutr.* 2001; 131: 676-88.
- 55 **Hall M, Frank E, Holmes G, Pfahringer B, Reutemann P, Witten IH.** The WEKA Data Mining Software: An Update. *SIGKDD Explorations* 2009; 11(1).

-
- 56 **Heimpel H, Riedel M, Wennauer R, Thomas L.** Die Plasmaeisenbestimmung- nützlich, unnötig oder irreführend? *Med Klini* 2003; 98: 104–107.
- 57 **Hew, TD.** Women hydrate more than men during a marathon race: hyponatremia in the Houston marathon: a report on 60 cases. *Hew TD. Clin J Sport Med.* 2005; 15(4): 286.
- 58 **Hinton PS, Giordano C, Brownlie T, Haas JD.** Iron supplementation improves endurance after training in iron-depleted, nonanemic women. *J. Appl. Physiol.* 2000; 88: 1103-1111.
- 59 **Hinton PS, Sinclair LM.** Iron supplementation maintains ventilatory threshold and improves energetic efficiency in iron-deficient nonanemic athletes. *Eur J Clin Nutr.* 2007; 61(1): 30-9.
- 60 **Hoffman R.** Hematology Basic Principles and Practice. Churchill Livingstone, New York 1991: 327.
- 61 **Hugman A.** Hepcidin: an important new regulator of iron homeostasis. *Clin Lab Haematol.* 200; 28(2): 75-83.
- 62 **Hulth L, Lindstedt G, Lundberg PA, Hallberg L.** Effect of a mild infection on serum Ferritin concentration – clinical and epidemiological implications. *Eur J of Clin Nutrition* 1998; 52: 376-379.
- 63 **Katodritou E, Terpos E, Zervas K, Speletas M, Kapetanios D, Kartsios C, Verrou E, Banti A, Effraimidou S, Christakis J.** Hypochromic erythrocytes (%): a reliable marker for recognizing iron-restricted erythropoiesis and predicting response to erythropoietin in anemic patients with myeloma and lymphoma. *Ann Hematol.* 2007; 86(5): 369-76.
- 64 **Kemna E, Pickkers P, Nemeth E, van der Hoeven H, Swinkels D.** Time-course analysis of hepcidin, serum iron, and plasma cytokine levels in humans injected with LPS. *Blood.* 2005; 106(5): 1864-6.
- 65 **Klingshirn LA, Pate RR, Bourque SP, Davis JM, Sargent RG.** Effect of iron supplementation on endurance capacity in iron-depleted female runners. *Med. Sci. Sports. Exerc.* 1992; 24: 819–24.
- 66 **Kolbe-Busch S, Niederau CM, Reinauer H.** Determination of Soluble Transferrin Receptor in Serum: Evaluation of two Enzyme Immunoassay and a

- Particle-Enhanced Immunonephelometric Assay. Clin. Lab. 1999; 45: 295-304.
- 67 **Kotisaari S, Romppanen J, Agren U, Eskelinen S, Punnonen K.** Reticulocyte indices rapidly reflect an increase in iron availability for erythropoiesis. Haematologica. 2003; 88(12): 1422-3.
- 68 **Kotisaari S, Romppanen J, Penttilä I, Punnonen K.** The Advia 120 red blood cells and reticulocyte indices are useful in diagnosis of iron-deficiency anemia. Eur J Haematol. 2002; 68(3): 150-6.
- 69 **Kulaksiz H, Gehrke SG, Janetzko A, Rost D, Bruckner T, Kallinowski B, Stremmel W.** Pro-Hepcidin: expression and cell specific localisation in the liver and its regulation in hereditary haemochromatosis, chronic renal insufficiency, and renal anaemia. Gut 2004; 53: 735-743.
- 70 **Langberg H, Olesen JL, Gemmer C, Kjaer M.** Substantial elevation of interleukin-6 concentration in peritendinous tissue, in contrast to muscle, following prolonged exercise in humans. J Physiol 2002; 542: 985-990.
- 71 **Labor 28 AG.** Mecklenburgische Straße 28, 14197 Berlin. <http://www.labor28.de>.
- 72 **Lieu PT, Heiskala M, Peterson PA, Yang Y.** The roles of iron in health and disease. Mol. Aspects. Med. 2001; 22: 1-87.
- 73 **MacDougall IC, Cavill I, Hulme B, Bain B, McGregor E, McKay P, Sanders E, Coles GA, Williams JD.** Detection of functional iron deficiency during erythropoietin treatment: a new approach. BMJ. 1992; 304: 225-6.
- 74 **Malczewska J, Blach W, Stupnicki R .** The Effect of Physical Exercise on the Concentrations of Ferritin and Transferrin Receptor in Plasma of Female Judoists. Int J Sports Med 2000; 21: 175-179.
- 75 **Malczewska J, Raczyński G.** Ferritin- a diagnostic index of iron status in athletes. Biology of Sport 1996; 13: 21-30.
- 76 **Malczewska J, Raczyński G, Stupnicki R.** Iron Status in Female Endurance Athletes and Non-Athletes. International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism 2000; 10: 260-276.

-
- 77 **Malczewska J, Szczepanska B, Stupnicki R, Sendeki W.** The Assessment of Frequency of Iron Deficiency in Athletes from the Transferrin Receptor-Ferritin Index. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism* 2001; 11: 42-52.
- 78 **Malope B I, MacPhail A P, Alberts M, Hiss C.** The ratio of serum transferrin receptor and serum Ferritin in diagnosis of iron status. *British Journal of Haematology* 2001; 115: 84-89.
- 79 **Margeli A, Skenderi K, Tsironi M, Hantzi E, Matalas AL, Vrettou C, Kanavakis E, Chrousos G, Papassotiriou I.** Dramatic elevations of interleukin-6 and acute-phase reactants in athletes participating in the ultradistance foot race spartathlon: severe systemic inflammation and lipid and lipoprotein changes in protracted exercise. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90(7): 3914-8.
- 80 **Marković M, Majkić-Singh N, Ignjatović S, Singh S.** Reticulocyte haemoglobin content vs. soluble transferrin receptor and ferritin index in iron deficiency anaemia accompanied with inflammation. *Int J Lab Hematol.* 2007; 29(5): 341-6.
- 81 **Marković M, Majkić-Singh N, Subota V, Mijusković Z.** Reticulocyte hemoglobin content in the diagnosis of iron deficiency anemia. *Clin Lab.* 2004; 50(7-8): 431-6.
- 82 **Mast A.** The clinical utility of peripheral blood tests in the diagnosis of iron deficiency anemia. *Bloodline reviews* 2001; 1:7-9.
- 83 **Mast AE, Blinder MA, Dietzen DJ.** Reticulocyte hemoglobin content. *Am J Hematol.* 2008; 83(4): 307-10.
- 84 **Mast AE, Blinder MA, LuQ, Flax S, Dietzen DJ.** Clinical utility of reticulocyte hemoglobin content in the diagnosis of iron deficiency. *Blood* 2002, 99: 1489-1491.
- 85 **Mateos González ME, de la Cruz Bértolo J, López Laso E, Valdés Sánchez MD, Nogales Espert A.** Reticulocyte haemoglobin content in the diagnosis of iron deficiency. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology* 2008; 30(7): 539-542.

-
- 86 **Mettler S.** Ferrum – ein Mineralstoff im Sport. Schweiz Z Sportmed Sporttraumatol 2004; 52 (3) 105–114.
- 87 **Metz CE.** Basic principles of ROC analysis. Sem. Nuc. Med. 1978, 8: 283-298.
- 88 **Mitchell TM.** Machine Learning. McGraw-Hill Higher Education; 1997.
- 89 **Mitsuiki K, Harada A, Miyata Y.** Assessment of iron deficiency in chronic hemodialysis patients: investigation of cutoff values for reticulocyte haemoglobin content. Clin Exp Nephrol 2003; 7: 52-57.
- 90 **Mitsuiki K, Harada A, Miyata Y.** Reticulocyte hemoglobin content in hemodialysis patients with acute infection. Clin Exp Nephrol. 2004; 8(3): 257-62.
- 91 **Mittman N, Sreedhara R, Mushnick R, Chattopadhyay J, Zelmanovic D, Vaseghi M, Avram M M.** Reticulocyte haemoglobin content predicts functional iron deficiency in hemodialysis patients receiving rHuEPO. Am J Kidney Dis. 1997; 6: 912-22.
- 92 **Nelson M, Bakaliou F, Trivedi A.** Iron-deficiency anemia and physical performance in adolescent girls from different ethnic backgrounds. Br J Nutr 1994; 72: 427–433.
- 93 **Nemeth E, Ganz T.** Regulation of Iron Metabolism by Hepcidin. Annu Rev Nutr. 2006; 26: 323-42.
- 94 **Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, Ganz T.** IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. J Clin Invest. 2004; 113(9): 1271-6.
- 95 **Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J.** Hepcidin regulates iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. Science 2004; 306: 2090-3.
- 96 **Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G, Lichtenstein A, Ganz T.** Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. Blood. 2003; 101(7): 2461-3.
- 97 **Newhouse IJ, Clement DB, Taunton JE, McKenzie DC.** The effects of prelatent/latent iron deficiency on physical work capacity. Med. Sci. Sports. Exerc. 1989; 21: 263–8.

-
- 98 **Nickerson HJ, Holubets MC, Weiler BR, Haas RG, Schwartz S, Ellefson ME.** Causes of iron deficiency in adolescent athletes. *J Pediatr.* 1989; 114: 657-63.
- 99 **Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, Devaux I, Beaumont C, Kahn A, Vaulont S.** The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest.* 2002; 110(7): 1037-44.
- 100 **Nicolas G, Viatte L, Bennoun M, Beaumont C, Kahn A, Vaulont S.** Hepcidin, a new iron regulatory peptide. *Blood Cells Mol Dis* 2002; 29(3): 327-35.
- 101 **Nielsen P, Nachtigall D.** Iron supplementation in athletes. Current recommendations. *Sports Med.* 1998; 26(4): 207-16.
- 102 **Olivares M, Walter T, Cook J D, Hertrampf E, Pizarro F.** Usefulness of serum transferrin receptor and serum ferritin in diagnosis of iron deficiency in infancy. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000; 72: 1191-5.
- 103 **Ostrowski K, Hermann C, Bangash A, Schjerling P, Nielsen JN, Pedersen BK.** A trauma-like elevation of plasma cytokines in humans in response to treadmill running. *J Physiol.* 1998; 513 (3): 889-94.
- 104 **Ostrowski K, Rohde T, Zacho M, Asp S, Pedersen BK.** Evidence that interleukin-6 is produced in human skeletal muscle during prolonged running. *J Physiol.* 1998; 508 (3): 949-53.
- 105 **Pate RR, Miller BJ, Davis JM, Slentz CA, Klingshirn LA.** Iron status of female runners. *Int J Sport Nutr.* 1993; 3(2): 222-31.
- 106 **Pansold B, Zimmer J, Gabriel WM.** Zum Einsatz und zur Interpretation von Laktatbestimmungen in der Leistungsdiagnostik. *Theorie und Praxis des Leistungssports* 23, 1985; 98-120.
- 107 **Peeling P, Blee T, Goodman C, Dawson B, Claydon G, Beilby J, Prins A.** Effect of iron injections on aerobic-exercise performance of iron-depleted female athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2007; 17(3): 221-31.
- 108 **Peeling P, Dawson B, Goodman C, Landers G, Wiegerinck ET, Swinkels DW, Trinder D.** Cumulative effects of consecutive running sessions on

- hemolysis, inflammation and hepcidin activity. *Eur J Appl Physiol.* 2009; 106(1): 51-9.
- 109 **Peeling P, Dawson B, Goodman C, Landers G, Trinder D.** Athletic induced iron deficiency: new insights into the role of inflammation, cytokines and hormones. *Eur J Appl Physiol.* 2008; 103(4): 381-91.
- 110 **Petrides PE.** Spurenelemente. *Biochemie und Pathobiochemie.* Heidelberg Berlin: Springer Verlag 2003; 623-647.
- 111 **Piperno A, Mariani R, Trombini P, Girelli D.** Hepcidin modulation in human diseases: from research to clinic. *World J Gastroenterol.* 2009; 15(5): 538-51.
- 112 **Pitsis GC, Fallon KE, Fallon SK, Fazakerley R.** Response of soluble transferrin receptor and iron-related parameters to iron supplementation in elite, iron-depleted, nonanemic female athletes. *Clin J Sport Med.* 2004; 14(5): 300-4.
- 113 **Ponka P, Baumont C, Richardson DR.** Function and regulation of transferrin and ferritin. *Semin Hematol* 1998; 35: 35-44.
- 114 **Powell PD, Tucker A.** Iron supplementation and running performance in female cross-country runners. *Int J Sports Med.* 1991; 12(5): 462-7.
- 115 **Punnonen K, Irjala K, Rajarnäki A.** Serum transferrin receptor and its ratio to serum ferritin in the diagnosis of iron deficiency. *Blood* 1997; 89: 1052-1057.
- 116 **Punnonen K, Irjala K, Rajamäki A.** Serum transferrin receptor, ferritin and TfR-F index in identification of latent iron deficiency. *Eur J Haematol.* 1998; 60(2): 135-7.
- 117 **Punnonen K, Suominen P, Kuusinen A, Kuiper-Kramer.** Clinical Use of Soluble Transferrin Receptor. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38 (4): 377.
- 118 **Richardson D, Bartlett C, Will EJ.** Optimizing erythropoietin therapy in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 2001; 38(1): 109-17.
- 119 **Risser WL, Lee EJ, Poindexter HB, West MS, Pivarnik JM, Risser JM, Hickson JF.** Iron deficiency in female athletes: its prevalence and impact on performance. *Med Sci Sports Exerc.* 1988; 20(2): 116-21.

-
- 120 **Röcker L.** Eiserne Kondition. Löslicher Transferrin-Rezeptor als Anämiemarkер beim Ausdauersport. Roche Dialog 2000; 2: 8-9.
- 121 **Röcker L, Hinz K, Holland K, Gunga H C, Vogelgesang J, Kieseewetter H.** Influence of Endurance Exercise (Triathlon) on Circulating Transferrin Receptors and Other Indicators of Iron Status in Female Athletes. Clin. Lab. 2002; 48: 307-312.
- 122 **Röcker L, Janiszewskie W, Hopfenmüller W.** Referenzwertermittlung von Schilddrüsenparametern im Serum für den Raum Berlin (West) unter besonderer Berücksichtigung von Alters- und Geschlechtsabhängigkeit. Lab.med. 1988; 12: 213-222.
- 123 **Röcker L, Meier-Buttermilch R, Brechtel L, Nemeth E, Ganz T.** Iron-regulatory protein hepcidin is increased in female athletes after a marathon. European journal of applied physiology 2005; 95(5-6): 569-71.
- 124 **Röcker L, Röcker C.** „Sportanämie“ – Wieviel Blut kostet ein Marathonlauf? J Lab Med 1999; 23 (1): 6-10.
- 125 **Sawka MN, Convertino VA, Eichner ER, Schnieder SM, Young AJ.** Blood volume: importance and adaptations to exercise training, environmental stresses, and trauma/sickness. Med Sci Sports Exerc. 2000; 32(2): 332-48.
- 126 **Schaefer RM, Schaefer L.** Hypochromic red blood cells and reticulocytes. Kidney Int Suppl. 1999; 69: 44-8.
- 127 **Schaefer RM, Schaefer L.** The hypochromic red cell: a new parameter for monitoring of iron supplementation during rhEPO therapy. J Perinat Med. 1995; 23(1-2): 83-8.
- 128 **Schumacher YO, Schmid A, Grathwohl D, Bültermann D, Berg A.** Hematological indices and iron status in athletes of various sports and performances. Med Sci Sports Exerc. 2002; 34(5): 869-75.
- 129 **Schumacher YO, Schmid A, König D, Berg A.** Effects of exercise on soluble transferrin receptor and other variables of the iron status. Br J Sports Med 2002; 36: 195-200.
- 130 **Shaskey DJ, Green GA.** Sports haematology. Sports Med. 2000; 29 (1): 27-38.

-
- 131 **Shike H, Lauth X, Westerman ME, Ostland VE, Carlberg JM, Van Olst JC, Shimizu C, Bulet P, Burns JC.** Bass hepcidin is a novel antimicrobial peptide induced by bacterial challenge. *Eur J Biochem.* 2002; 269(8): 2232-7.
- 132 **Sinclair LM, Hinton PS.** Prevalence of iron deficiency with and without anemia in recreationally active men and women. *J Am Diet Assoc.* 2005; 105(6): 975-8.
- 133 **Skikne BS, Flowers CH, Cook JD.** Serum transferrin receptor: a quantitative measure of tissue iron deficiency. *Blood* 1990; 75 (9): 1870-1876.
- 134 **Solberg H.** Approved recommendation on the theory of reference values. Part 5: Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1987; 25: 645-656.
- 135 **Steensberg A, Toft AD, Schjerling P, Halkjaer-Kristensen J, Pedersen BK.** Plasma interleukin-6 during strenuous exercise: role of epinephrine. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001; 281: 1001-1004.
- 136 **Stegmann H, Kindermann W, Schnabel A.** Lactate kinetics and individual anaerobic threshold. *International Journal of Sports Medicine.* 1981; 2: 160-165.
- 137 **Suominen P, Punnonen K, Rajarnäki A, Irjala K.** Serum transferrin receptor and transferrin receptor ferritin index identify healthy subjects with subclinical iron deficits. *Blood* 1998; 92: 2934-2939.
- 138 **Tessitore N, Solero GP, Lippi G, Bassi A, Faccini GB, Bedogna V, Gammara L, Brocco G, Restivo G, Bernich P, Lupo A, Maschio G.** The role of iron status markers in predicting response to intravenous iron in haemodialysis patients on maintenance erythropoietin. *Nephrol Dial Transplant.* 2001; 16(7): 1416-23.
- 139 **Thomas L.** Labor und Diagnose. Frankfurt/Main: TH-Books Verlagsgesellschaft mbH 2005; 6. Auflage.
- 140 **Thomas L, Thomas C.** Anämie bei Eisenmangel und Störungen im Eisenstoffwechsel. *Dtsch Med Wochenschr* 2002; 127: 1591-1594.

-
- 141 **Thomas C, Thomas L.** Biochemical Markers and hematologic indices in the diagnosis of functional iron deficiency. *Clinical Chemistry* 2002; 7: 10066-1076.
- 142 **Thomas L, Thomas C, Heimpel H.** Neue Parameter zur Diagnostik von Eisenmangelzuständen. *Deutsches Ärzteblatt* 2005; 9: A580-A586.
- 143 **Tsuchiya K, Saito M, Okano-Sugiyama H, Nihei H, Ando M, Teramura M, Iwamoto YS, Shimada K, Akiba T.** Monitoring the content of reticulocyte hemoglobin (CHr) as the progression of anemia in nondialysis chronic renal failure (CRF) patients. *Ren Fail.* 2005; 27(1): 59-65.
- 144 **Weight L M, Darge B L, Jacobs P.** Athletes' pseudoanaemia. *Eur J Appl Physiol* 1991; 62: 358-365.
- 145 **Wick M.** Eisen außer Balance – Bestimmung des löslichen Transferrin-Rezeptors. *Roche Dialog* 2000; 2: 6-7.
- 146 **Wick M, Pinggera W, Lehmann P.** Eisenstoffwechsel, Anämie, Diagnostik und Therapie. Springer Verlag Wien New York. 2000; 6.
- 147 **Williams MH.** Dietary supplements and sports performance: minerals. *J Int Soc Sports Nutr* 2005; 2: 43-49.
- 148 **Wilkinson JG, Martin DT, Adams AA, Liebman M.** Iron Status in Cyclist During High-Intensity Interval Training and Recovery. *Int J Sports Med* 2002; 23: 544-548.
- 149 **Wish JB.** Assessing iron status: beyond serum ferritin and transferrin saturation. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2006; 1: 4-8.
- 150 **World Health Organisation.** Nutritional anemias. Technical Report Series 1992; 503.
- 151 **Zhu YI, Haas JD.** Iron depletion without anemia and physical performance in young women. *Am J Clin Nutr.* 1997; 66(2): 334-41.
- 152 **Zoller H, Vogel W.** Iron supplementation in athletes - first do no harm. *Nutrition.* 2004; 20(7-8): 615-9.

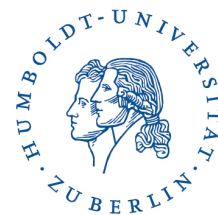
Anhang

Tabelle A 1: Veränderung von Eisenstoffwechselfparametern unter Substitution – Darstellung der Parameter an den einzelnen Untersuchungstagen (Median, 25./ 75. Perzentil, Signifikanzniveau), n=10

prä	BE 1	BE 2	BE 3	BE 4	BE 5	BE 6	BE 7	P*
Erythrozytenanzahl [T/l]								
4,43 [4,36/4,69]	4,36 [4,23/4,53]	4,64 [4,09/4,86]	4,36 [4,07/4,6]	4,49 [4,22/4,87]	4,46 [4,35/4,63]	4,50 [4,3/4,72]	4,40 [4,28/4,74]	n.s.
Hämoglobin [g/dl]								
12,8 [12,5/14,9]	12,8 [12,3/14,3]	13,45 [12,5/15,3]	12,95 [12,4/14,2]	13,8 [12,6/14,3]	13,8 [13,1/14,3]	13,7 [13,3/14,2]	13,85 [12,7/14,5]	n.s.
Hämatokrit [%]								
37,7 [36,5/42,3]	38,3 [36,7/40,6]	40,7 [36,9/42,1]	38,85 [37,0/41,5]	39,6 [37,7/42,2]	39,5 [37,8/42,7]	40,2 [39,1/41,0]	40,25 [36,7/42,2]	n.s.
Ferritin [ng/ml]								
8,0 [5,0/14,0]	13,0 [10,0/23,0]	14,0 [8,0/25,0]	15,0 [9,0/25,0]	16,5 [11,0/23,0]	17,5 [13,0/37,0]	21,5 [12,0/28,0]	22,0 [16,0/37,0]	<0,0073
sTfR [mg/l]								
1,34 [1,19/1,79]	1,38 [1,27/1,27]	1,43 [1,28/1,69]	1,44 [1,23/1,63]	1,46 [1,32/1,66]	1,38 [1,19/1,65]	1,28 [1,14/1,58]	1,37 [1,12/1,50]	n.s.
TfR-F-Index [TfR/log Ferritin]								
1,53 [1,11/2,56]	1,28 [0,92/1,71]	1,39 [0,88/1,59]	1,31 [0,88/0,50]	1,15 [0,86/1,52]	1,22 [0,75/1,34]	1,04 [0,79/1,42]	1,01 [0,79/1,20]	<0,0073
CHr [pg]								
31,8 [29,9/32,7]	33,4 [32,0/34,0]	33,0 [31,9/33,8]	32,8 [32,3/34,0]	32,7 [31,9/33,9]	33,0 [32,1/35,1]	33,8 [33,3/35,6]	34,1 [32,8/34,9]	n.s.
HYPO [%]								
0,2 [0,1/0,7]	0,2 [0,1/0,4]	0,3 [0,1/0,5]	0,2 [0,1/0,3]	0,2 [0,1/0,5]	0,1 [0,1/0,3]	0,1 [0,1/0,2]	0,2 [0,0/0,4]	n.s.
Anteil hypochromer Retikulozyten [%]								
1,1 [0,6/3,9]	0,6 [0,4/1,1]	0,4 [0,3/0,6]	0,5 [0,3/0,7]	0,4 [0,2/0,9]	0,5 [0,2/0,9]	0,3 [0,2/0,4]	0,2 [0,1/0,4]	<0,0073

Signifikante Unterschiede im prä/post-Vergleich gepaarter Stichproben (Wilcoxon)

HUMBOLDT-UNIVERSITÄT ZU BERLIN



Abteilung Sportmedizin
Fritz-Lesch-Str. 29
13053 Berlin
Tel.: (030) 2093 4655
Fax: (030) 2093 4654

email: sportmedizin@rz.hu-berlin.de
homepage: www.sportmedizin.hu-berlin.de

Berlin, den ____ . ____ . ____

Anamnesebogen**1. Persönliche Daten**

Name:	Vorname:
Geb.-Datum:	Geschlecht:
Größe:	Gewicht:
Adresse:	Telefon:

Letzte sportmedizinische Untersuchung: Datum: ____ . ____ . 19 ____ in ____
Hiermit erteile ich mein Einverständnis zur sportärztlichen Untersuchung und zur Speicherung und Auswertung meiner Daten.

Ort und Datum

Unterschrift (Sportler, Patient, gesetzl. Vertreter)

2a) Sport früher und aktuell

Sportart	Zeitraum (von-bis)	Trainingseinheiten / Woche	Trainingsstunden / Woche

2b) Aktueller Leistungssport (nur für Leistungssportler, ansonsten siehe 2a)

Hauptsportart: _____ Hauptdisziplin: _____
 Kader: A __, B __, C __, D __, anderer: _____ Verband: _____
 Verbandsarzt: _____ Bundes-/Landestrainer: _____
 Heimtrainer: _____
 Wöchentliche Trainingsbelastung: _____
 Trainingseinheiten pro Woche: _____ Trainingsstunden pro Woche: _____
 Anzahl der Trainingsjahre in Hauptsportart: _____ Jahre

Art des Trainings	Trainingsform (Laufen, Radfahren, Wasser)	Umfang / Woche (Dauer bzw. km)	Intensität (km- Schnitt, Strecken, Pausen, Anz., Wiederh., Puls)	Häufigkeit/ Woche
Ausdauertraining				
Intervalltraining				
Schnelligkeitsausdauertraining (Tempobelastung)				
Schnelligkeitstraining (Sprintbelastung)				
Krafttraining				
Sportartspezifisches Training (z.B. Spiel)				
Andere Trainingsformen (Technik, Gymnastik, Stretching, Spiel usw.)				
Regeneration (lockere Belastung, Sauna, Massage)				

Trainingspausen (letzte 12 Monate)

Wann: _____

Warum: _____

Wie wurde am Tag vor der Untersuchung trainiert? _____

3. Krankenanamnese:

3a) Bestehen zurzeit **aktuelle** Beschwerden, wenn ja, welche, seit wann und bisherige Therapie?

___nein, ___ja:

3b) Besteht irgendeine **Grunderkrankung / chronische Erkrankung**, wenn ja, welche, seit wann und Therapie?

___nein, ___ja: _____

Häufigkeiten von Infekten der oberen Luftwege (Husten, Schnupfen, Halsschmerzen):
 _____ mal (ca. _____ Tage) pro Jahr.

3c) Ist ein **Eisenmangel** bekannt? ___ nein, ___ ja: wenn ja, seit wann _____

3d) Bestehen **Allergien** bzw. **Unverträglichkeiten** (z.B. Heuschnupfen, Asthma etc.)?

___ nein, ___ ja: wenn ja, welche allergische(n) Erkrankung(en) liegen vor?

wenn ja, welche Allergene sind als Auslöser diagnostiziert worden?

Welche therapeutischen Maßnahmen wurden bisher durchgeführt (bei Medikation – Name und Dosierung)?

Leiden andere Familienmitglieder an allergischen Erkrankungen?

Eltern: Mutter ___ nein, ___ ja, welche Erkrankung: _____

Vater ___ nein, ___ ja, welche Erkrankung: _____

Geschwister: Schwester ___ nein, ___ ja, welche Erkrankung: _____

Bruder ___ nein, ___ ja, welche Erkrankung: _____

Großeltern:

Mütterlicher Seits:

Großmutter ___ nein, ___ ja, welche Erkrankung: _____

Großvater ___ nein, ___ ja, welche Erkrankung: _____

Väterlicher Seits:

Großmutter ___ nein, ___ ja, welche Erkrankung: _____

Großvater ___ nein, ___ ja, welche Erkrankung: _____

In welchem Lebensalter trat die allergische Erkrankung zum 1. Mal auf?

3e) Für **Frauen**:

Eintritt der ersten Regelblutung? _____ Zyklusdauer? _____

Dauer der Regelblutung? _____ Beschwerden/Auffälligkeiten? _____

Schwangerschaftsschutz (z.B. "Pille" (seit wann, Name und Dosierung), Spirale etc.)?

3f) **Vegetative** Anamnese:

Appetit normal? ___ ja, ___ nein; Schlaf normal? ___ ja, ___ nein;

Stuhlgang normal? ___ ja, ___ nein; Wasserlassen normal? ___ ja, ___ nein;

Wasserlassen nachts? ___ ja, ___ nein; Husten bzw. Auswurf: ___ ja, ___ nein

Medikamente (seit wann, Name und Dosierung)	
Vitaminpräparate? Mineralstoffe (Elektrolyte)?	
Nikotin (seit wann, Art und Menge)	
Alkohol (seit wann, Art und Menge)	

3g) Welche **Kinderkrankheiten** lagen vor?

___ Masern, ___ Mumps, ___ Röteln, ___ Windpocken, ___ Scharlach, ___ Keuchusten, ___ Mandel-OP (wann? _____)

Welche Impfungen wurden wann (möglichst mit Jahresangabe) durchgeführt (Tetanus, Kinderlähmung, Röteln, Masern, Mumps, Diphtherie, Keuchhusten, Tuberkulose, Grippe etc.)?

- im Kindesalter? _____

- jetziger Impfschutz? _____

3h) Bestanden **frühere** Erkrankungen, Verletzungen, Knochenbrüche, Unfälle, Operationen, Krankenhausaufenthalte?

(Augen, Ohren, Schilddrüse, Herzkreislaufsystem, Atemwege (inklusive Mandeln und Polypen), Magen/Darm, Leber, Gallenblase, Bauchspeicheldrüse, Harnwege/Nieren, Geschlechtsorgane, Haut, Nervensystem, Blut etc.)

Bewegungsapparat: Wirbelsäule, Schulter, Ellenbogen, Unterarm, Hand, Finger, Hüfte, Becken, Kniegelenk, Sprunggelenk, Füße, Muskulatur etc.)

___nein, ___ ja (Jahresangabe, Art der Erkrankung, kurze Angabe über Therapie/Verlauf):

3i) Sind bei **Großeltern, Eltern oder Geschwistern** irgendwelche Grunderkrankungen oder besonderen Erkrankungen bekannt (z.B. Fettstoffwechselstörungen, Bluthochdruck, Herzinfarkt (Lebensalter?), Gehirnschlag (Lebensalter?), Diabetes mellitus, Rheuma/Gicht, Allergien, Krebserkrankungen (Lebensalter) u.a.)

___nein, ___ja (Art der Erkrankung, Lebensalter und bei wem?):

4. Soziale Anamnese:

Schulabschluss (Hochschulstudium, Abitur, Realschule, Hauptschule, Gesamtschule etc.):

Beruf: _____,

ledig: ____, verheiratet: ____, geschieden: ____, verwitwet: ____, Anzahl der Kinder: ____

Tabelle A 2: Übersicht der mit dem ADVIA® 120 analysierten zellulären Parameter und Indizes, Anzahl: 102

Parameter	Abkürzung/ Einheit
Hämoglobinkonzentration 1 (photometrisch gemessen)	measHGB(g/dL)
Hämatokrit (Hk)	HCT(%)
Mittleres Zellvolumen	MCV(fL)
Mittlerer korpuskulärer Hämoglobingehalt	MCH(pg)
Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration	MCHC(g/dL)
Cell Hemoglobinconcentration Mean	CHCM(g/dL)
Erythrozytenverteilungsbreite in %	RDW(%)
Hämoglobinverteilungsbreite in %	HDW(g/dL)
Absolute Anzahl Retikulozyten	#Retic(x10E09 cells/L)
% Retikulozyten	%Retic(%)
% Mikrozytäre Erythrozyten (< 60 fl)	micro_pcnt
% Makrozytäre Erythrozyten (> 120 fl)	macro_pcnt
% Hypochrome Erythrozyten (< 28 g/dl)	hypo_pcnt
% Hyperchrome Erythrozyten (> 41 g/dl)	hyper_pcnt
Mikrozytose: Anzahl mikrozytäre Erythrozyten (< 60 fl)	mico_ct
Makrozytose: Anzahl makrozytäre Erythrozyten (> 120 fl)	macro_ct
Anzahl hypochrome Erythrozyten (< 28 g/dl)	hypo_ct
Anzahl hyperchrome Erythrozyten (> 41 g/dl)	hyper_ct
Mittelwert Hämoglobingehalt der Erythrozyten	H_mean(pg)
Standardabweichung Hämoglobingehalt der Erythrozyten	H_deviation(pg)
Absolute Anzahl niedrig absorbierende Retikulozyten	low_retic_cells
Absolute Anzahl mittelstark absorbierende Retikulozyten	med_retic_cells
Absolute Anzahl stark absorbierende Retikulozyten	high_retic_cells
% niedrig absorbierende Retikulozyten	pcnt_low_retics(%)
% mittelstark absorbierende Retikulozyten	pcnt_med_retics(%)
% stark absorbierende Retikulozyten	pcnt_high_retics(%)
MCV Retikulozyten	retic_MCV(fL)
Retikulozytenverteilungsbreite	retic_RDW(%)
Mittlere Zellhämoglobinkonzentration der Retikulozyten	reticCHCM(g/dL)
Hämoglobinverteilungsbreite der Retikulozyten	retic_HDW(g/dL)
CHr	retic_H_mean(pg)
Anzahl hypochrome mikrozytäre Erythrozyten	hypo_micro_count
Anzahl normochrome mikrozytäre Erythrozyten	norm_micro_count
Anzahl hyperchrome mikrozytäre Erythrozyten	hyper_micro_count

Parameter	Abkürzung/ Einheit
Anzahl hypochrome normozytäre Erythrozyten	hypo_norm_count
Anzahl normochrome normozytäre Erythrozyten	norm_count
Anzahl hyperchrome normozytäre Erythrozyten	hyper_norm_count
Anzahl hypochrome makrozytäre Erythrozyten	hypo_macro_count
Anzahl normochrome makrozytäre Erythrozyten	norm_macro_count
Anzahl hyperchrome makrozytäre Erythrozyten	hyper_macro_count
% hypochrome mikrozytäre Erythrozyten	hypo_micro_pcnt
% normochrome mikrozytäre Erythrozyten	norm_micro_pcnt
% hyperchrome mikrozytäre Erythrozyten	hyper_micro_pcnt
% hypochrome normozytäre Erythrozyten	hypo_norm_pcnt
% normochrome normozytäre Erythrozyten	norm_pcnt
% hyperchrome normozytäre Erythrozyten	hyper_norm_pcnt
% hypochrome makrozytäre Erythrozyten	hypo_macro_pcnt
% normochrome makrozytäre Erythrozyten	norm_macro_pcnt
% hyperchrome makrozytäre Erythrozyten	hyper_macro_pcnt
Anzahl hypochrome mikrozytäre Retikulozyten	R_C_hypo_micro_count
Anzahl normochrome mikrozytäre Retikulozyten	R_C_norm_micro_count
Anzahl hyperchrome mikrozytäre Retikulozyten	R_C_hyper_micro_count
Anzahl hypochrome normozytäre Retikulozyten	R_C_hypo_norm_count
Anzahl normochrome normozytäre Retikulozyten	R_C_norm_count
Anzahl hyperchrome normozytäre Retikulozyten	R_C_hyper_norm_count
Anzahl hypochrome makrozytäre Retikulozyten	R_C_hypo_macro_count
Anzahl normochrome makrozytäre Retikulozyten	R_C_norm_macro_count
Anzahl hyperchrome makrozytäre Retikulozyten	R_C_hyper_macro_count
% hypochrome mikrozytäre Retikulozyten	R_C_hypo_micro_pcnt
% normochrome mikrozytäre Retikulozyten	R_C_norm_micro_pcnt
% hyperchrome mikrozytäre Retikulozyten	R_C_hyper_micro_pcnt
% hypochrome normozytäre Retikulozyten	R_C_hypo_norm_pcnt
% normochrome normozytäre Retikulozyten	R_C_norm_pcnt
% hyperchrome normozytäre Retikulozyten	R_C_hyper_norm_pcnt
% hypochrome makrozytäre Retikulozyten	R_C_hypo_macro_pcnt
% normochrome makrozytäre Retikulozyten	R_C_norm_macro_pcnt
% hyperchrome makrozytäre Retikulozyten	R_C_hyper_macro_pcnt
Immature Reticulocyte Fraction stark absorbierender Retikulozyten in %	IRF-H(%)
Immature Reticulocyte Fraction stark/mittelstark absorb. Retikulozyten in %	IRF-M+H(%)
Differenz MCV der Retikulozyten zu "mature cells"	MCV_rm_delta(fL)
Differenz der Verteilungsbreite der Retikulozyten zu "mature cells"	RDW_rm_delta(%)

Parameter	Abkürzung/ Einheit
Differenz CHCM der Retikulozyten zu "mature cells"	CHCM_rm_delta(g/dL)
Differenz der Hämoglobinverteilungsbreite der Retikulozyten zu "mature cells"	HDW_rm_delta(g/dL)
Differenz CH der Retikulozyten zu "mature cells"	CH_rm_delta(pg)
Differenz der Hämoglobingehaltverteilungsbreite Retikulozyten/"mature cells"	CHDW_rm_delta(pg)
Mittleres Zellvolumen "mature RBC"	mature_MCV(fL)
Erythrozytenverteilungsbreite "mature RBC"	mature_RDW(%)
Mittlere Zellhämoglobinkonzentration "mature RBC"	mature_CHCM(g/dL)
Hämoglobinverteilungsbreite "mature RBC"	mature_HDW(g/dL)
Mittlerer Hämoglobingehalt "mature RBC"	mature_CH(pg)
Hämoglobinkonzentrationverteilungsbreite "mature RBC"	mature_CHDW(pg)
% Mikrozytäre Erythrozyten "mature RBC"	%micro_m
% Makrozytäre Erythrozyten "mature RBC"	%macro_m
% Hypochrome Erythrozyten "mature RBC"	%hypo_m
% Hyperchrome Erythrozyten "mature RBC"	%hyper_m
% Mikrozytäre Retikulozyten	%micro_r
% Makrozytäre Retikulozyten	%macro_r
% Hypochrome Retikulozyten	%hypo_r
% Hyperchrome Retikulozyten	%hyper_r
Mittlerer Hämoglobingehalt der % niedrig absorbierenden Retikulozyten	%lowCH_r
Mittlerer Hämoglobingehalt der % stark absorbierenden Retikulozyten	%highCH_r
Ret-Hb	Ret-Hb
Ratio MCV Retis zu MCV mature	MCVr / MCV mature cells
Ratio CHCM Retis zu CHCM mature	CHCM_RAT
Differenz measured Hb 1 zu calculated Hb2	D_HB1HB2
Ratio rbcHb measured zu ret Hb	Ratio rbc Hb / ret Hb
Ratio rbcHb calculated zu ret Hb	RATIOHB2
Ratio CH retikulozytär zu CH mature	CHR_CHM
Summe Retikulozyten	
Anzahl hypochrome Retikulozyten	
% hypochrome Retikulozyten	%
% hypochrome Retikulozyten errechnet	%

Tabelle A 3: Darstellung von Sensitivität, Spezifität, Cut-off und AUC (Area under curve) ausgewählter Blutparameter für die Beurteilung „gesund vs. krank“, Bewertung nach Metz [87]*

Paramater	gesund vs. krank			
	Sensitivität	Spezifität	Cut-off	AUC
% HYPO	44,3	93,0	>0,2	0,705
CHr	40,9	78,9	<=31,4	0,618
Hämoglobinkonzentration	69,3	78,1	<=13,3	0,780
Hämatokrit	87,5	52,3	<=40,7	0,728
Mittleres Zellvolumen MCV	84,1	26,6	>83,7	0,511
MCH	28,4	96,1	<028,7	0,644
Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration	79,5	53,9	<=34,6	0,692
CHCM	48,9	89,7	<=34,3	0,723
Anzahl hypochrome Erythrozyten (< 28 g/dl)	44,3	93,6	>107	0,719
Anzahl hypochrome mikrozytäre Erythrozyten	58,6	69,7	>0	0,664
Anzahl hypochrome normozytäre Erythrozyten	50	89,7	>99	0,715
Anzahl hyperchrome mikrozytäre Erythrozyten	93,1	27,0	>123	0,564
Anzahl normochrome mikrozytäre Erythrozyten	23,9	87,3	>507	0,558
Anzahl hypochrome normozytäre Retikulozyten	59,1	81,7	>364	0,743
% hypochrome normozytäre Retikulozyten	48,9	92,1	>0,2	0,696
Anzahl hypochrome Retikulozyten	53,5	83,7	>537	0,716
% hypochrome Retikulozyten	69	68,9	>0,7	0,739
% hypochrome Retikulozyten errechnet	49,3	89,5	>1,55	0,724

* Bewertung der diagnostischen Testgüte:

excellent	good	fair	poor	fail
-----------	------	------	------	------

Tabelle A 4: Darstellung von Sensitivität, Spezifität, Cut-off und AUC (Area under curve) ausgewählter Blutparameter für die Beurteilung „gesund vs. Speichereisenmangel“, Bewertung nach Metz [87]*

gesund vs. Speichermangel				
Paramater	Sensitivität	Spezifität	Cut-off	AUC
% HYPO	17,8	93,0	>0,2	0,540
CHr	95,6	15,6	<=34,5	0,528
Hämoglobinkonzentration	60,0	78,1	<=13,3	0,744
Hämatokrit	86,7	52,3	<=40,7	0,705
Mittleres Zellvolumen MCV	62,2	63,3	>88,1	0,619
MCH	48,9	67,2	>30,7	0,517
Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration	84,4	43	<=35,1	0,631
CHCM	64,4	60,3	<=35,1	0,621
Anzahl hypochrome Erythrozyten (< 28 g/dl)	48,9	70,4	>42	0,565
Anzahl hypochrome mikrozytäre Erythrozyten	40,9	69,7	>0	0,552
Anzahl hypochrome normozytäre Erythrozyten	46,7	70,6	>47	0,561
Anzahl hyperchrome mikrozytäre Erythrozyten	75	50	<=56	0,606
Anzahl normochrome mikrozytäre Erythrozyten	60	59,5	>205	0,573
Anzahl hypochrome normozytäre Retikulozyten	51,1	70,6	>280	0,607
% hypochrome normozytäre Retikulozyten	55,6	66,7	>0,6	0,617
Anzahl hypochrome Retikulozyten	56,8	60,5	>297	0,569
% hypochrome Retikulozyten	52,3	68,9	>0,7	0,604
% hypochrome Retikulozyten errechnet	56,8	60,5	>0,75	0,582

* Bewertung der diagnostischen Testgüte:

excellent	good	fair	poor	fail
-----------	------	------	------	------

Tabelle A 5: Darstellung von Sensitivität, Spezifität, Cut-off und AUC (Area under curve) ausgewählter Blutparameter für die Beurteilung „gesund vs. IDE“, Bewertung nach Metz [87]*

Paramater	gesund vs. IDE			
	Sensitivität	Spezifität	Cut-off	AUC
% HYPO	72,1	93,0	>0,2	0,878
CHr	55,8	78,9	<=31,4	0,713
Hämoglobinkonzentration	79,1	78,1	<=13,3	0,818
Hämatokrit	72,1	73,4	<=38,8	0,751
Mittleres Zellvolumen MCV	76,7	47,7	<87,3	0,602
MCH	81,4	68,7	<029,7	0,814
Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration	90,7	53,9	<=34,6	0,756
CHCM	67,4	89,7	<=34,3	0,830
Anzahl hypochrome Erythrozyten (< 28 g/dl)	72,1	93,6	>107	0,880
Anzahl hypochrome mikrozytäre Erythrozyten	76,7	69,7	>0	0,778
Anzahl hypochrome normozytäre Erythrozyten	72,1	92,9	>112	0,875
Anzahl hyperchrome mikrozytäre Erythrozyten	93	27	>=123	0,521
Anzahl normochrome mikrozytäre Erythrozyten	93	38,1	>191	0,695
Anzahl hypochrome normozytäre Retikulozyten	81,4	83,3	>378	0,886
% hypochrome normozytäre Retikulozyten	81,4	81,7	>0,9	0,888
Anzahl hypochrome Retikulozyten	79,4	88,4	>634	0,877
% hypochrome Retikulozyten	69,8	91,6	>1,5	0,878
% hypochrome Retikulozyten errechnet	79,4	89,5	>1,55	0,879

* Bewertung der diagnostischen Testgüte:

excellent	good	fair	poor	fail
-----------	------	------	------	------

Tabelle A 6: Darstellung von Sensitivität, Spezifität, Cut-off und AUC (Area under curve) ausgewählter Blutparameter für die Beurteilung „Speichereisenmangel vs. IDE“, Bewertung nach Metz [87]*

Speichereisenmangel vs. IDE				
Paramater	Sensitivität	Spezifität	Cut-off	AUC
% HYPO	72,1	82,2	>0,2	0,838
CHr	79,1	51,1	<=32,6	0,698
Hämoglobinkonzentration	69,8	51,1	<=13,3	0,607
Hämatokrit	72,1	48,9	<=38,8	0,571
Mittleres Zellvolumen MCV	88,4	53,3	<88,8	0,719
MCH	74,4	77,8	<029,6	0,805
Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration	58,1	71,1	<=33,8	0,670
CHCM	60,5	82,2	<=34,1	0,739
Anzahl hypochrome Erythrozyten (< 28 g/dl)	72,1	84,4	>108	0,825
Anzahl hypochrome mikrozytäre Erythrozyten	60,5	84,1	>3	0,734
Anzahl hypochrome normozytäre Erythrozyten	72,1	82,2	>111	0,826
Anzahl hyperchrome mikrozytäre Erythrozyten	55,8	72,7	>55	0,630
Anzahl normochrome mikrozytäre Erythrozyten	93	53,3	>189	0,754
Anzahl hypochrome normozytäre Retikulozyten	69,8	87,6	>612	0,815
% hypochrome normozytäre Retikulozyten	69,8	87,6	>1,6	0,808
Anzahl hypochrome Retikulozyten	79,4	81,1	>633	0,822
% hypochrome Retikulozyten	67,4	86,4	>1,7	0,800
% hypochrome Retikulozyten errechnet	79,4	83,8	>1,72	0,816

Bewertung der diagnostischen Testgüte:

<i>excellent</i>	<i>good</i>	<i>fair</i>	<i>poor</i>	<i>fail</i>
------------------	-------------	-------------	-------------	-------------

Danksagung

In erster Linie gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. med. Roland Wolff, der mir als Doktorvater und Projektleiter eines drittmittelfinanzierten Forschungsprojektes die Möglichkeit zur Durchführung und Verfassung der Dissertation gegeben hat.

Mein besonderer Dank gilt Dr. med. Lars Brechtel (Humboldt-Universität zu Berlin) für die Anregung des Themas, die umfangreiche Unterstützung bei der Durchführung der Untersuchungen und die stete wissenschaftliche Betreuung, vor allem in Bezug auf die statistische Auswertungen und die Ergebnisinterpretation.

Ich danke weiterhin Prof. Dr. med. habil. Lothar Röcker (Freie Universität Berlin, Labor 28) für die vielfältigen Anregungen und die Unterstützung bezüglich der Literaturrecherche, sowie für die Bereitschaft, die Arbeit als Gutachter zu betreuen. Allen Herren danke ich für die ständige Diskussionsbereitschaft und die kritische Durchsicht bei der Abfassung der vorliegenden Schrift.

Den wissenschaftlichen Assistenten der Abteilung Sportmedizin am Institut für Sportwissenschaft (Humboldt-Universität zu Berlin) und des Labor 28, im Besonderen Frau Rosali Meier-Buttermilch, danke ich für die Unterstützung bei der Organisation und Durchführung der Untersuchungen. Herzlich bedanken möchte ich mich bei dem Labor 28 (Berlin/Deutschland) für die Bereitstellung der Materialien und der Analysegeräte für die Blutanalysen sowie bei der Bayer Vital GmbH (Fernwald/Deutschland) für die Kooperation. Für die kostenlose Analyse des Pro-Hepcidins möchte ich mich ganz herzlich bei der DRG Instruments GmbH (Marburg/Deutschland), insbesondere bei Herrn Wilhelm Sänger, bedanken.

Vielen Dank aber vor allem an die zahlreichen Sportlerinnen und Sportler für die Teilnahme an der Studie.

Ein ganz besonderer Dank gilt sowohl meiner Familie, als auch meinen Freunden und meinem Arbeitgeber, die mir die Dissertation ermöglicht und mich in jeder Hinsicht unterstützt haben.

Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere, dass die vorliegende Arbeit zum Thema „Wertigkeit ausgewählter Eisenstoffwechselfparameter im Ausdauersport“ von mir selbständig verfasst und keine anderen Hilfsmittel als die hier angegebenen verwendet wurden. Alle Zitate sowie sinngemäße wörtliche Wiedergaben, die anderen Werken entnommen wurden, sind unter Angabe der Quelle kenntlich gemacht. Die Abbildungen, Diagramme und Tabellen sind von mir erstellt, sofern diese nicht als Entlehnung gekennzeichnet sind.

Berlin, 18. April 2010

Steffi Brachmann